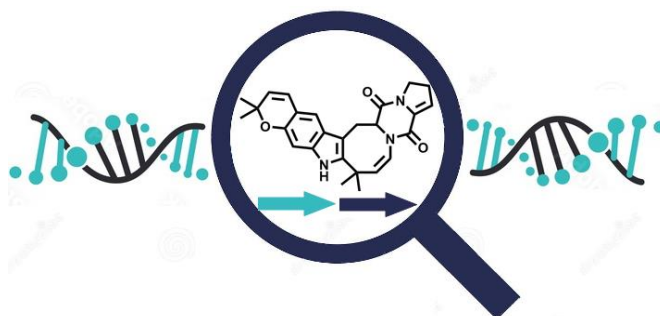


Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова
Дальневосточного отделения Российской академии наук
(ТИБОХ ДВО РАН)



ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Всероссийская научная школа-конференция
молодых ученых и студентов

*Владивосток
3–7 октября 2023 г.*

Тезисы докладов конференции



© Оформление. ФГАОУ ВО ДВФУ, 2023
ISBN 978-5-7444-5579-8

**Всероссийская научная школа-конференция молодых ученых и студентов
«Генетические технологии в исследованиях природных соединений»**

УДК 57:60(06)

ББК 28.07я431 + 28.087.1я431 + 28.4я431 + 28я431

Мероприятие проведено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках реализации отдельных мероприятий Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы по соглашению № 075-15-2021-1052 от 29.09.2021 г.

Организационный комитет выражает благодарность за оказанную поддержку Дальневосточному федеральному университету, ООО «СкайДжин», ООО «Русмедторг», ООО «ПТФ «Корпус» и ООО «Компания Хеликон».

Генетические технологии в исследованиях природных соединений. Всероссийская научная школа-конференция молодых ученых и студентов, Владивосток, 3–7 октября 2023 г. : тезисы докладов конференции / ТИБОХ ДВО РАН. – Владивосток : Издательство Дальневосточного федерального университета, 2023. – [139 с.]. – ISBN 978-5-7444-5579-8. – URL: <https://www.dvfu.ru/science/publishing-activities/catalogue-of-books-fefu/>. – Дата публикации: 26.10.2023. – Текст. Изображение: электронные.

Сборник включает материалы устных и постерных докладов, представленных на Всероссийской научной школе-конференции «Генетические технологии в исследованиях природных соединений» ведущими учеными, молодыми специалистами, аспирантами и студентами. Тематика докладов охватывает широкий спектр исследований в области молекулярной и физико-химической биологии, микробиологии, биотехнологии, биоинформатики и геномики. В сборнике представлены результаты исследований биоразнообразия, систематики и генетики микроорганизмов, обсуждаются актуальные проблемы применения генетических технологий в исследовании природных биоактивных соединений, создания биотехнологически ценных продуцентов, а также новые генетические инструменты и технологии.

Материалы сборника могут представлять интерес для студентов, аспирантов, научных сотрудников и специалистов в области микробиологии, физико-химической и молекулярной биологии, геномики и биоинформатики.

Текстовое электронное издание

Минимальные системные требования:

Веб-браузер Internet Explorer версии 6.0 или выше,
Opera версии 7.0 или выше, Google Chrome версии 3.0 или выше.

Компьютер с доступом к сети Интернет.

Минимальные требования к конфигурации и операционной системе компьютера определяются требованиями перечисленных выше программных продуктов.

Размещено на сайте 26.10.2023 г.

Объем 2,80 Мб

Дальневосточный федеральный университет
690922, Приморский край, г. Владивосток, о. Русский, п. Аякс, 10.

E-mail: prudkoglyad.sa@dvfu.ru

Тел.: 8 (423) 226-54-43

© Оформление. ФГАОУ ВО ДВФУ, 2023

Председатель программного комитета

Михайлов Валерий Викторович, д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН, зав. лабораторией микробиологии ТИБОХ ДВО РАН.

Члены программного комитета

Стоник Валентин Аронович, д.х.н., профессор, академик РАН, научный руководитель ТИБОХ ДВО РАН.

Дмитренко Павел Сергеевич, д.х.н., директор ТИБОХ ДВО РАН.

Текутьева Людмила Александровна, к.т.н., генеральный директор ООО «Арника», директор Передовой инженерной школы ДВФУ.

Винников Кирилл Андреевич, к.б.н., директор Института Мирового океана ДВФУ.

Красицкая Светлана Георгиевна, к.х.н., и.о. директора Института наукоемких технологий и передовых материалов ДВФУ.

Орлова Татьяна Юрьевна, к.б.н., зам. директора по научной работе, научный руководитель лаборатории морской микробиоты ННЦМБ ДВО РАН.

Киселев Константин Вадимович, к.б.н., руководитель лаборатории биотехнологии ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН.

Бурьгин Геннадий Леонидович, к.б.н., доцент, с.н.с. Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов ФИЦ СНЦ РАН.

Гризанова Екатерина Валерьевна, к.б.н., доцент кафедры защиты растений, в.н.с. лаборатории биологической защиты растений и биотехнологии НГАУ.

Исаева Марина Петровна, к.м.н., доцент, зав. лабораторией морской биохимии ТИБОХ ДВО РАН.

Юрченко Антон Николаевич, к.х.н., и.о. зав. лабораторией химии микробных метаболитов ТИБОХ ДВО РАН.

Председатель организационного комитета

Исаева Марина Петровна, к.м.н., доцент, зав. лабораторией морской биохимии ТИБОХ ДВО РАН.

Члены организационного комитета

Куриленко Валерия Валерьевна, к.б.н., с.н.с. лаборатории микробиологии ТИБОХ ДВО РАН.

Лещенко Елена Владиславовна, к.х.н., н.с. лаборатории биологически активных соединений Института наукоемких технологий и передовых материалов ДВФУ.

Быстрицкая Евгения Петровна, м.н.с. лаборатории морской биохимии ТИБОХ ДВО РАН.

Кокоулин Максим Сергеевич, к.х.н., с.н.с. лаборатории неинфекционного иммунитета ТИБОХ ДВО РАН.

Гузев Константин Викторович, директор ООО «Бюротика».

Боркунов Глеб Владимирович, аспирант Института наукоемких технологий и передовых материалов ДВФУ, лаборант-исследователь лаборатории химии микробных метаболитов ТИБОХ ДВО РАН.

Хмель Ольга Олеговна, аспирант Передовой инженерной школы ДВФУ.

Олейникова Елена Олеговна, главный специалист Института наукоемких технологий и передовых материалов ДВФУ.

Бикмуллина Татьяна Анатольевна, главный специалист Института наукоемких технологий и передовых материалов ДВФУ.

Ермаченко Валентина Юрьевна, главный специалист Института наукоемких технологий и передовых материалов ДВФУ.

Шлык Надежда Павловна, лаборант-исследователь лаборатории биологически активных соединений Института наукоемких технологий и передовых материалов ДВФУ.

Балдаев Сергей Николаевич, аспирант лаборатории морской биохимии ТИБОХ ДВО РАН.

Содержание

БИОИНФОРМАТИКА И СРАВНИТЕЛЬНАЯ ГЕНОМИКА – ИСТОЧНИК НОВЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИНСТРУМЕНТОВ И ТЕХНОЛОГИЙ	11
Сравнительная геномика и моделирование в синтетической биологии и медицине: поиск сигнатур путей биосинтеза и предсказание новых белковых функций <i>Л.А. Балабанова</i>	11
Изучение пиРНК-опосредованного сайленсинга генов у дрозофил <i>А.В. Беспалова, Д.А. Куликова, С.Ю. Фуников</i>	12
Молекулярно-генетический портрет вируса SARS-CoV-2 в Приморском крае в 2020-2023 годах <i>А.А. Белик, Л.М. Семейкина, Е.В. Персиянова, Ю.А. Белов, Н.В. Крылова, М.Ю. Щелканов</i>	13
Сравнительная геномика бактерий рода <i>Formosa</i> <i>Е.П. Быстрицкая, О.И. Недашковская, Н.Ю. Отставных, С.-Г. Ким, М.П. Исаева</i>	14
Курируемая база метагеномных данных, ассоциированных с нефтяной промышленностью <i>Э.И. Гарифуллина, Д.С. Зилов, М.А. Ильина, М.А. Попова, Т.Р. Рахманов</i>	15
Экспрессия ключевых генов синтеза жирных кислот в семенах и коробочках <i>Linum usitatissimum</i> L. <i>Е.М. Дворянинова, Л.В. Повхова, Е.Н. Пушкова, Т.А. Рожмина, А.А. Дмитриев, Н.В. Мельникова</i>	16
Гомологичное моделирование и скрининг РНК-полимераз растений семейства Зонтичные <i>Н.В. Иванов</i>	17
Анализ генома морской бактерии 7Alg 153 семейства <i>Roseobacteraceae</i>, несущей гены фотосинтезирующей системы II <i>А.И. Иващенко, Н.Ю. Отставных, О.И. Недашковская, М.П. Исаева</i>	18
Подходы сравнительной геномики для описания биотехнологического потенциала морских бактерий <i>М.П. Исаева</i>	19
Использование двухвекторной системы на основе аденоассоциированного вируса для генной терапии миопатии Миоши на модели мышей B6.A-Dys^{fprmd}/GeneJ <i>Е.В. Кузубова, А.И. Радченко, М.В. Корокин</i>	20
Компьютерный дизайн потенциальных мультикиназных ингибиторов <i>Я.В. Лайков, А.Д. Карпенко</i>	21
Наука из жизни и про жизнь – биоинформатика <i>А.Л. Лопидус</i>	22
Изучение генома <i>Vacillus</i> sp. – эндофита винограда <i>Vitis amurensis</i> Rupr., эффективного антагониста возбудителя серой гнили у растений <i>З.В. Огнева, О.А. Алейнова, Н.Н. Нитяговский, А.А. Ананьев, К.В. Киселев</i>	23
Многоступенчатые нарушения альтернативного сплайсинга РНК при FUS-протеинопатии в моторных нейронах <i>А.П. Резвых, А.А. Устюгов, К.Д. Чапров, Е.В. Тетерина, В.О. Небогатиков, Д.С. Спасская, М.Б. Евгеньев, А.В. Морозов, С.Ю. Фуников</i>	24
Реконструкция механизмов транскрипционной регуляции ответа на цитокинин у <i>Arabidopsis thaliana</i> L. <i>Ю.А. Рябов, В.А. Долгих</i>	25
Транскриптомный анализ льна с использованием пробоподготовки, основанной на Tn5 <i>Е.А. Сигова, Л.В. Повхова, Е.Н. Пушкова, Т.А. Рожмина, Е.М. Дворянинова, А.А. Дмитриев, Н.В. Мельникова</i>	26
Исследование метаболизма L-аминокислот бактерией <i>Corynebacterium glutamicum</i> методами математического моделирования <i>М.Ф. Трофимова</i>	27

Изучение тканеспецифичной экспрессии HMRG-полипептидов <i>Heteractis magnifica</i> с использованием ампликонного секвенирования <i>В.Е. Чаусова, Н.Ю. Отставных, Е.П. Быстрицкая, М.П. Исаева</i>	28
Поиск агрономически ценных штаммов эндофитных бактерий на основании анализа их геномов <i>В.К. Чеботарь, Е.П. Чижевская, М.С. Ганчева</i>	29
Анализ кластеров генов вторичного метаболизма термофильного штамма <i>Streptomyces</i> <i>В.Н. Шелковникова, М.Е. Дмитриева, Н.А. Потапова, А.Ю. Бельшенко, Е.В. Малыгина, Н.А. Имидоева, М.М. Моргунова, А.А. Власова, Т.Ю. Тельнова, Д.В. Аксёнов-Грибанов</i>	30
Реассортация в геноме нового штамма <i>Synovirus-1</i>, выделенного из <i>Dendrolimus sibiricus</i> <i>М.Е. Якимова, С.А. Боднев, Н.И. Еришов, В.В. Мартемьянов</i>	31
Экспрессия генов иммунного ответа колорадского жука на грибные инфекции. <i>О.Н. Ярославцева, У.Н. Роцкая, Е.С. Косман, Ю.А. Носков, Э.М. Кабирова, В.С. Фишман, М.Е. Старчевская, Д.В. Антонец, В.Ю. Крюков</i>	32
БИОРАЗНООБРАЗИЕ, СИСТЕМАТИКА И ГЕНЕТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ КАК ОСНОВА БИОБАНКОВ И БИОРЕСУРСНЫХ КОЛЛЕКЦИЙ	33
Хемотаксономическая паспортизация биокolleкции паразитарных штаммов спорыньи <i>А.А. Волнин, Г.В. Адамов, Н.С. Цыбулько, П.С. Савин, С.Б. Мясникова</i>	33
Биоразнообразие фомоидных грибов, ассоциированных с соей, в коллекции чистых культур микромицетов лаборатории Микологии и фитопатологии ВИЗР <i>М. М. Гомжина, Е. Л. Гасич</i>	34
Поиск новых бактериофагов, специфичных в отношении бактерий рода <i>Rhodococcus</i> и <i>Corynebacterium</i> <i>Д.Д. Дербигов, Н.Р. Косенко, А.В. Попова, А.С. Яненко</i>	35
16S рРНК профилирование донных осадков Охотского моря (залив Академии, Ульбанский залив) <i>В.И. Еремеев, Ю.В. Савичева, Н.Ю. Отставных, Л.А. Романенко, М.П. Исаева</i>	36
Формирование микробиоты колорадского жука <i>Leptinotarsa decemlineata</i> <i>С. Жангисина, Т.Н. Клементьева, О.В. Поленогова, В.В. Глухов</i>	37
Бактериальные сообщества бентонитов месторождений Таганское, Зырянское и 10-й Хутор <i>А.В. Закусина, В.С. Чепцов, И.И. Толпецкая, В.В. Крупская</i>	38
Первичная оценка биоразнообразия грибных симбионтов трюфельных грибов <i>Н.А. Имидоева, Е.В. Малыгина, М.Е. Дмитриева, А.Ю. Бельшенко, В.Н. Шелковникова, М.М. Моргунова, А.А. Власова, С.В. Кулинич, Д.В. Аксёнов-Грибанов</i>	39
Разнообразие и эволюция микроорганизмов глубинной подземной биосферы <i>В.В. Кадников, А.В. Белецкий, А.В. Марданов, О.В. Карначук, Н.В. Равин</i>	40
Грибы рода <i>Aspergillus</i> P. Micheli, ассоциированные с морскими субстратами: их фенотипическое, молекулярно-генетическое разнообразие и биотехнологический потенциал <i>Н.Н. Киричук, В.Е. Чаусова, Ю.В. Худякова, Е.А. Чингизова, М.В. Пивкин</i>	41
Микробные ассоцианты колорадского жука в период гибернации, роль динамики параметров иммунитета в развитии инфекции <i>Е.С. Косман, У.Н. Роцкая, В.Ю. Крюков, О.В. Поленогова, Я.Ю. Чумакова, В.В. Морозова, О.Н. Ярославцева, Ю.А. Носков</i>	42
Образование пены при культивировании штамма <i>Corynebacterium glutamicum</i> - продуцента валина снижается при инактивации гена эстеразы <i>Т.Е. Крокунова, М.Е. Шереметьева, Т.Е. Шустикова</i>	43
Влияние физических факторов на уровень токсинов и вирулентности бактерий <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>thuringiensis</i> <i>А.А. Круговых</i>	44
Коллекция морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН – хранилище генофонда морского микробного разнообразия <i>В. В. Куриленко, Л.А. Романенко, О.И. Недашковская, В.В. Михайлов</i>	45

Физиология новых представителей рода <i>Thermoanaerobacterium</i> с гидролитической активностью, выделенных из отходов сельскохозяйственных животных <i>А.П. Лукина, К.Г. Власова, Л.Б. Глухова, О.В. Карначук</i>	46
Оценка пробиотического потенциала у новых представителей <i>Lactobacillus</i>, выделенных из редких сельскохозяйственных и диких животных <i>А.П. Лукина, Л.О. Соколянская, Е.А. Никитина, Л.Б. Глухова, О.В. Карначук</i>	47
Идентификация и физиолого-биохимическая характеристика фомоидных микромицетов, выявленных на растениях родов <i>Cirsium</i> и <i>Sonchus</i> в Приморском крае <i>Е.Г. Лукина, И.А. Казарцев, А.О. Берестецкий</i>	48
Информационная система биоколлекции – концепция, подсистемы, некоторые аспекты применения <i>В.В. Михайлов, М.П. Исаева, В.В. Куриленко, Н.Ю. Отставных, Е.П. Быстрицкая, С.Н. Балдаев, В.Е. Чаусова, И.Е. Ильин, П.А. Лысюк, К.В. Гузев</i>	49
Биоресурсная коллекция «Морской биобанк» ННЦМБ ДВО РАН – современный подход к сбору, хранению, изучению и управлению морскими образцами <i>Т.Ю. Орлова</i>	50
Развитие систематики актинобактерий рода <i>Rathayibacter</i>: двенадцать новых видов из травянистых и древесных растений <i>Ю.В. Оспенников, А.В. Демидов, Л.В. Дорофеева, И.П. Стародумова, С.В. Тарлачков, Н.В. Присяжная, С.А. Субботин, Л.И. Евтушенко</i>	51
Активность микробной сульфатредукции в пробах глубинных подземных горизонтов, содержащих представителей семейства "<i>Desulforudaceae</i>" <i>И.И. Русанов, В.В. Кадников, А.П. Лукина, Е.Е. Захарова, О.В. Карначук</i>	52
Филогенетический анализ бактерий, выделенных из донных осадков Чёрного моря <i>Ю.В. Савичева, Л.А. Романенко</i>	53
Анализ краткосрочной и долгосрочной стабильности микробиоты кишечника человека здоровых добровольцев методом полногеномного секвенирования <i>А.М. Сенина, М.И. Маркелова, Д.Р. Хуснутдинова, М.Н. Снягина, Е.А. Булыгина, О.А. Данилова, Т.В. Григорьева</i>	54
Фаговая платформа вирусных вакцин <i>С.П. Синеокий</i>	55
Разнообразие штаммов <i>Escherichia coli</i> при болезни Крона под воздействием биологической терапии. Кейс репорт <i>М.Н. Снягина, А.В. Лайков, М.И. Маркелова, Е.А. Булыгина, Н.А. Данилова, С.Р. Абдулхаков, Т.В. Григорьева</i>	56
Новые виды семейства <i>Geodermatophilaceae</i>, содержащие гены микробных родопсинов <i>С.В. Тарлачков, И.П. Стародумова, О.В. Буева, Л.В. Лысак, С.А. Субботин, Л.И. Евтушенко</i>	57
Воздействие различных подвидов бактерий <i>Bacillus thuringiensis</i> на физиологические и биохимические показатели колорадского жука <i>Leptinotarsa decemlineata</i> <i>Д.С. Терещенко, Е.В. Гризанова, И.М. Дубовский</i>	58
Национальный каталог промышленных микроорганизмов. Принципы и критерии формирования. <i>К.Б. Тимирбаев</i>	59
Колонизация растений картофеля грибами <i>Metarhizium</i> и <i>Beauveria</i> в условиях Сибири <i>М.В. Тюрин, М.Р. Кабилов, Н.С. Смирнова, О.Г. Томилова, О.Н. Ярославцева, Т.Ю. Аликина, В.В. Глухов, В.Ю. Крюков</i>	60
Потенциал продукции токсических метаболитов штаммами <i>Ligilactobacillus salivarius</i>, выделенными от пациентов с болезнью Крона <i>Д.Р. Хуснутдинова, М.И. Маркелова, М.Н. Снягина, А.М. Сенина, Е.А. Булыгина, С.Р. Абдулхаков, Т.В. Григорьева</i>	61

Криобанк сельскохозяйственных микроорганизмов как хранилище природных ресурсов и источник штаммов с инновационными свойствами <i>В.Е. Цыганов, В.И. Сафронова</i>	62
Молекулярно-генетическая идентификация грибов рода <i>Trichoderma</i> Pers., изолированных с различных субстратов из лесных фитоценозов <i>В.Н. Шевко, А.В. Константинов, И.А. Хархасова, С.В. Пантелеев</i>	63
Идентификация морских бактерий, выделенных из донных осадков Охотского моря, на основе генотипирования по 16S рРНК <i>С.Е. Шевцова, В.И. Еремеев, Ю.В. Савичева, Л.А. Романенко</i>	64
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ: ОТ ГЕНА К БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИ ЦЕННОМУ ПРОДУЦЕНТУ	65
Экспрессия специфичных генов биосинтеза нафтохиноидных пигментов морских ежей <i>Scaphechinus mirabilis</i> и <i>Strongylocentrotus intermedius</i> <i>Н.В. Агеенко, К.В. Киселев, Н.А. Одинцова</i>	65
Перспективы применения эндофитов винограда в биотехнологии <i>О.А. Алейнова, Н.Н. Нитяговский, А.Р. Супрун, А.А. Ананьев, К.В. Киселев</i>	66
Полногеномный и метаболомный анализ эндофитной бактерии винограда <i>Vitis amurensis</i> Rupr. рода <i>Gordonia</i> sp., стимулятора роста растений <i>А.А. Ананьев, О.А. Алейнова, Н.Н. Нитяговский, А.Р. Супрун, З.В. Огнева, К.В. Киселев</i>	67
Физиолого-биохимические характеристики кишечных симбиотических энтеробактерий колорадского жука и их взаимодействие с энтомопатогенными бактериями <i>Bacillus thuringiensis</i> <i>А.С. Артемченко, Т.Н. Клементьева, О.В. Поленогова</i>	68
Структурная организация генов оксидоскваленциклаз голотурии <i>Eupentacta fraudatrix</i> <i>С.Н. Балдаев, К.В. Исаева, А.И. Иващенко, М.П. Исаева</i>	69
Молекулярно-биологические подходы для визуализации протеасом в живых клетках <i>А.В. Буров, Е.В. Григорьева, В.Л. Карпов, А.В. Морозов</i>	70
Противоопухолевые препараты модулируют функциональную активность и повышают экспрессию иммунных протеасом в трансформированных клетках <i>Е.В. Григорьева, К.А. Шабанская, Т.Г. Малеева, А.В. Буров, В.Л. Карпов, А.В. Морозов</i>	71
Молекулярно-генетические подходы повышения эффективности биологических инсектицидов <i>Е.В. Гризанова</i>	72
Использование РНК интерференции для контроля численности насекомых вредителей <i>И.М. Дубовский</i>	73
Влияние антибиотикорезистентных симбиотических бактерий насекомых на развитие бактериозов, вызванных <i>Bacillus thuringiensis</i> <i>Т.Н. Клементьева, О.В. Поленогова, Н.А. Крюкова, В.В. Глунов</i>	74
Влияние углеводов на экспрессию генов алкан-1-монооксигеназ <i>alkB</i> у родококков <i>Л.П. Комарова, А.В. Криворучко, И.Б. Ившина</i>	75
Исследование механизмов активации моноцитов костного мозга мышей, вакцинированных БЦЖ <i>Л.Г. Кондратьева, А.И. Кузьмич, И.А. Линге, Д.А. Дидыч, И.В. Алексеенко</i>	76
Твердая против жидкой: влияние среды на экспрессию генов и вирулентность <i>Bacillus thuringiensis</i> <i>Т.И. Крыцына, Е.В. Гризанова, Е.А. Любецких, И.М. Дубовский</i>	77
Полногеномный анализ <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> как пробиотика нового поколения <i>М.И. Маркелова, М.Н. Синягина, Н.А. Данилова, С.Р. Абдулхаков, Р.А. Абдулхаков, Т.В. Григорьева</i>	78
Разработка методической платформы для анализа компонент микробиоты окружающей среды на основе ПЦР в реальном времени <i>Т.В. Маряшкина, А.А. Казаков, В.В. Демкин</i>	79

Повышение активности высокоточных форм эндонуклеазы Cas9 путем случайного мутагенеза и рационального дизайна	
<i>А.А. Матвеева, А.И. Давлетшин, Д.С. Спасская, В.В. Тютяева, Д.Г. Гарбуз, Д.С. Карпов</i>	80
Разнообразие и роль протеасом в клетках и тканях	
<i>А.В. Морозов, В.Л. Карпов</i>	81
Методы ранней диагностики возбудителя ложной мучнистой росы <i>Plasmopara viticola</i> среди винограда Дальнего Востока России	
<i>Н.Н. Нитяговский, О.А. Алейнова, А.А. Ананьев, А.Р. Супрун, К.В. Киселёв</i>	82
Бактериальные сообщества насекомых: влияние симбионтов на развитие патогенов и токсикозов	
<i>О.В. Поленогова, Т.Н. Клементьева, А.С. Артемченко, Н.А. Крюкова, В.Ю. Крюков, В.В. Глунов</i>	83
Низкоиммуногенная протеиновая платформа с собственной адьювантной активностью для разработки вакцин	
<i>А.И. Полинова, М.В. Волкова, А.А. Горбунов, А.В. Серкина, Е.П. Санникова, И.И. Губайдуллин, М.Ю. Копеева, К.С. Плохих, Н.В. Булушова, Д.Г. Козлов</i>	84
Изучение разнообразия и поиск доменов β-дефензин-подобных ингибиторов α-амилаз среди Стрекающих	
<i>Д.В. Попкова, Н.Ю. Отставных, О.В. Синцова, И.Н. Гладких, М.П. Исаева, Е.В. Лейченко</i>	85
Мультимиксные исследования аборигенных микроорганизмов техногенных экосистем	
<i>В.А. Романова, Е.А. Булыгина, М.И. Маркелова, Т.В. Григорьева, А.В. Лайков</i>	86
Изучение влияния 2-хлорфаскаплизина на выживаемость злокачественных клеток лейкозов	
<i>П.В. Спиринов, М.Д. Кренгауз, В.О. Ведерникова, О.А. Тряпкин, П.А. Смирнова, М.Е. Жидков, В.С. Прасолов</i>	87
Метод молекулярной детекции нового штамма <i>Dendrolimus sibiricus</i> Cyrovirus -1 в альтернативном хозяине	
<i>А.О. Субботина, В.В. Мартемьянов, И.А. Белоусова</i>	88
Исследование и оптимизация промоторных последовательностей в дрожжах <i>Yarrowia lipolytica</i> для создания штаммов-продуцентов	
<i>А. В. Черенкова, О. Е. Мелькина</i>	89
Гены утилизации нитрилов в бактериях <i>Rhodococcus</i> – применение в промышленном биокатализе	
<i>А.О. Шемякина, Е.Г. Гречишников, А.Д. Новиков, К.В. Лавров, А.С. Яненко</i>	90
Взаимное влияние модификаций генов биосинтеза и транспорта L-валина у <i>Corynebacterium glutamicum</i> на экспрессию данных генов	
<i>М.Е. Шереметьева, К.Э. Ануфриев, В.В. Розанцева, Т.И. Калинина, А.С. Яненко</i>	91
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ: ПРИРОДНЫЕ БИОАКТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ	92
Генетические основы серологических различий грамотрицательных бактерий	
<i>Г.Л. Бурьгин</i>	92
Поликетиды из природного комплекса морских грибов <i>Penicillium sajarovii</i> КММ 4718 и <i>Aspergillus protuberus</i> КММ 4747 ассоциированных с морским плоским ежом <i>Scaphechinus mirabilis</i>	
<i>Г.В. Боркунов, Е.А. Юрченко, В.Е. Чаусова, Н.Н. Киричук, Е.В. Лещенко</i>	93
Новые ингибиторы гистон деацетилаз первого класса для подавления роста клеток лимфомы	
<i>В.О. Ведерникова, А.С. Земская, М.В. Козлов, П.В. Спиринов, В.С. Прасолов</i>	94
De Novo дизайн потенциальных ингибиторов ВИЧ-1	
<i>Д.А. Воробьев, А.Д. Карпенко</i>	95
Дегградация сырой нефти в воде биоорганическими композициями на основе гуминовых кислот	
<i>М.М. Герцен, Л.В. Переломов</i>	96

Пептиды морских анемонов, модулирующие активность кислоточувствительных ионных каналов: структурное разнообразие и биологическая активность <i>И.Н. Гладких, Р.С. Калина, А.А. Климович, М.М. Монастырская, М.П. Исаева, С.А. Козлов, Е.В. Лейченко</i>	97
Исследование противовирусной активности новых нуклеозидных ингибиторов ВИЧ-1 с помощью безопасной модульной системы на основе лентивирусных частиц. <i>К.А. Глушакова, Г.А. Иванов, В.О. Ведерникова, Т.Д. Лебедев, А.А. Зенченко, В.Е. Ословский, М.С. Дреничев, В.С. Прасолов, П.В. Спирин</i>	98
Исследование функциональной активности никотиновых ацетилхолиновых рецепторов на первичных клеточных линиях глиобластомы <i>Е.А. Гондаренко, Д.В. Мазур</i>	99
Промышленно ценные грибные целлюлозодегидрогеназы: множественность форм <i>С.Ю. Горина, Ж.В. Ренфельд, А.М. Черных, М.П. Коломывцева</i>	100
Почвенные микроорганизмы – потенциальные продуценты биоактивных веществ с фунгицидной активностью <i>А.Ю. Гуляева</i>	101
Природные 10-членные лактоны: продуценты, структурное разнообразие и их биологическая активность <i>В.Р. Дубовик, А.А. Далинова, А.О. Берестецкий</i>	102
Применение бактериальных культур для получения функционального биогенного металл-содержащего наноматериала <i>О.А. Журавлева, А.Ю. Власова, А.И. Килочек, Т.А. Воейкова</i>	103
Разработка протоколов выделения и очистки тканевой транскламиназы человека для проведения скрининга ингибиторов и функциональных исследований <i>С.Д. Иващенко, С.Д. Осипов, А.В. Власов</i>	104
Поиск генных кластеров, кодирующих биосинтез полисахаридов, в геномах бактерий рода <i>Zobellia</i> <i>К.В. Исаева, Е.П. Быстрицкая, А.И. Иващенко, О.И. Недашкова, М.С. Кокоулин, М.П. Исаева</i>	105
Влияние фазы вегетации на синтез экистероидов растений рода <i>Serratula</i> L. <i>Д.И. Казанцева</i>	106
Исследование самоограниченных комплексов РНК, образованных парой олигонуклеотидов <i>М.А. Канарская, А.А. Ломзов</i>	107
Изменчивость содержания вторичных метаболитов овощных культур <i>Brassica rapa</i> в связи с устойчивостью к чешуекрылым вредителям <i>А.Б. Курина, А.Е. Соловьева, А.М. Артемьева</i>	108
Моделирование микровязкости мембраны в окружении зонда активированной кумаринами С-525, С-334, С-314 хемилюминесценции под действием комплекса цитохрома С с кардиолипином. <i>И.Н. Левченко, Г.К. Владимиров, И.В. Володяев</i>	109
Молекулярные мишени и фармакологический потенциал анемонотоксинов <i>Е.В. Лейченко</i>	110
Метаболиты морских грибов, ассоциированных с водорослями и травами, и перспективы их дальнейшего изучения при помощи стратегии OSMAC <i>Е.В. Лещенко</i>	111
Бактериостатическая активность экстракта пигмента микробного происхождения в отношении тест-культуры <i>Clavibacter michiganensis</i> <i>Н.С. Ляховченко, А.А. Чепурина, И.П. Соляникова</i>	112
Родокочки как эффективные катализаторы биосинтеза фармакологически значимых соединений на основе монотерпеноидов <i>П.Ю. Мальцева, Н.А. Лучникова, И.В. Ильина, И.Б. Ившина, Н.Ф. Салахутдинов</i>	113

Вторичные метаболиты морского гриба <i>Penicillium hispanicum</i> КММ 4689 при гипосолево- м стрессе	
<i>Л.Е. Нестеренко, Е.А. Юрченко, А.Н. Юрченко</i>	114
Изучение механизма антимиграционной активности актинопоринов морской анемоны <i>Heteractis magnifica</i>	
<i>А.П. Павленко, А.Н. Кветкина, Е.В. Лейченко</i>	115
Идентификация бактериальных пигментов у <i>Rhodococcus erythropolis</i> X5	
<i>А.С. Парфенова</i>	116
Особенности комплексообразования G-квадруплексов из промотора с-MYC с ДНК- метилтрансферазами	
<i>А.С. Петров, А.В. Сергеев, Е.С. Громова</i>	117
Изучение биологической активности пептида HCRG21, блокатора TRPV1 канала, в модели псориазоподобного поражения кожи	
<i>Н.А.Прийменко, А.А.Климович, Ю.В.Кожевникова, И.Н. Гладких, О.В. Синцова, Е.В. Лейченко</i> ..	118
Изучение свойств пептидов с целью терапии болезни Альцгеймера на модели трансгенных мышей APP^{swe}/PS1^{dE9}/B1g	
<i>А.И. Радченко, Е.В. Кузубова, М.В. Корокин, К.Д. Чапуров</i>	119
Ген-кодируемые антимикробные пептиды растений и грибов: сравнительный структурно- функциональный аспект	
<i>Е.А. Рогожин, А.С. Барашикова</i>	120
Инсектотоксичность протеазы S из <i>Photorhabdus laumondii</i> и ее действие на белки гемолимфы <i>Galleria mellonella</i>	
<i>А.О. Светлова, М.А. Карасева, О.В. Побегуц, М.А. Галямина, И.П. Смирнов, И.В. Демидюк</i>	121
Бета-ионон как индуктор специфического стресс-ответа в бактериальных клетках	
<i>Д.Е. Сидорова, О.Е. Мелькина, О.А. Кокшарова, Е.Н. Вагнер, И.А. Хмель, В.А. Плюта</i>	122
Антрахиноновые производные морского гриба <i>Asteromyces cruciatus</i> КММ 4696 и их действие на <i>Staphylococcus aureus</i>	
<i>С.С. Старновская, О.И. Журавлева, Е.А. Чингизова, А.Н. Юрченко</i>	123
Вторичные метаболиты морского гриба <i>Penicillium antarcticum</i> КММ 4670	
<i>О.О. Хмель, Е.А. Чингизова, А.Н. Юрченко</i>	124
Исследование экспрессии мРНК субъединиц гетеромерных никотиновых ацетилхолиновых рецепторов (nAChR) для моноцитов и макрофагов, участвующих в патогенезе сепсиса	
<i>И.В. Холошенко, И.В. Шелухина</i>	125
Влияние количества и природы галогеновых заместителей 3-(хинолин-2- илметил)изоиндолин-1-он на его структурные и электронные характеристики	
<i>А.Г. Шатило, С.Д. Усольцев</i>	126
Ароматические метаболиты морского микроскопического гриба <i>Aspergillus chevalier</i> КММ 4176	
<i>Н.П. Шлык, Е.В. Лещенко</i>	127
Биосинтетические возможности морских микроскопических грибов	
<i>А.Н. Юрченко</i>	128
Биологическая роль и возможности практического применения метаболитов морских грибов	
<i>Е.А. Юрченко, Е.А. Чингизова, Д.Л. Аминин</i>	129
Расчет термодинамических параметров комплексообразования модифицированных олигонуклеотидов с применением метода взвешенных гистограмм при анализе молекулярно-динамических траекторий	
<i>И.И. Юшин, В.М. Гольшев, А.А. Ломзов</i>	130
АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ	131

БИОИНФОРМАТИКА И СРАВНИТЕЛЬНАЯ ГЕНОМИКА – ИСТОЧНИК НОВЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИНСТРУМЕНТОВ И ТЕХНОЛОГИЙ

Сравнительная геномика и моделирование в синтетической биологии и медицине: поиск сигнатур путей биосинтеза и предсказание новых белковых функций

Л.А. Балабанова

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: lbalabanova1@gmail.com

Реконструкция метаболических путей и молекулярное моделирование на основе сравнительного анализа ортологичных генов и целых геномов микроорганизмов с установленными фенотипами и свойствами белков и метаболитов являются ключевыми задачами в биоинженерии и биомедицине. Применение современных инструментов биоинформационного анализа, использующих курируемые базы данных ферментов, метаболитов и биохимических реакций, позволяет значительно ускорить поиск сигнатур метаболических путей и межклеточных внутри- и межвидовых коммуникационных сетей для исследования механизмов их регуляции, установления молекулярно-генетических ассоциаций «генотип-фенотип», предсказания новых метаболических путей, молекулярных структур и функций. Эти знания нужны для разработки как новых штаммов с заданными свойствами и оптимизации биотехнологического получения из них ценных метаболитов, так и новых лекарственных и диагностических средств. С помощью популяции синтетического штамма можно осуществлять контроль за микробными популяциями как человека, так и биотехнологического реактора или природной экологической ниши, используя его способность продуцировать сигнальные молекулы, антибиотики или предшественники общих биохимических процессов, например, синтеза жизненно важных витаминов и кофакторов, в ответ на изменение видового соотношения, состава, развитие патологического процесса хозяина или других нежелательных свойств микробиома. Кроме того, поиск биологически активных природных соединений среди метаболитов неисследованных источников, какими являются геномы и метагеномы морских и живущих в экстремальных условиях прокариот и эукариот, приводит к открытиям новых молекулярных структур с уникальными свойствами. Инновационность препаратов таких соединений заключается в использовании новых механизмов действия в отношении молекул-мишеней организма человека и животных. Методы молекулярного докинга и *in silico* мутагенеза позволяют спрогнозировать все взаимодействия «белок-лиганд» для усовершенствования фармацевтических и диагностических свойств новых препаратов.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075–15-2021-1052.

Изучение пиРНК-опосредованного сайленсинга генов у дрозофил

А.В. Беспалова^{1,2}, Д.А. Куликова¹, С.Ю. Фуников¹

¹Институт молекулярной биологии им. Энгельгардта РАН, Москва

²ФКН НИУ ВШЭ, Москва

электронная почта: lina.bespalowa@yandex.ru

Малые некодирующие РНК, ассоциированные с белками семейства Piwi (пиРНК), регулируют экспрессию мобильных генетических элементов (МЭ) в герминальных клетках животных. В общем виде эта регуляция осуществляется на посттранскрипционном уровне за счет подавления экспрессии МЭ (деградация мРНК), а также на ко-транскрипционном уровне с помощью метилирования ДНК и/или гистонов.

Частным случаем является регуляция экспрессии генов с помощью пиРНК. Молекулы пиРНК образуются из дискретных геномных локусов, называемых пиРНК-кластерами. Герминальные пиРНК-кластеры не содержат никаких специальных мотивов, поэтому, теоретически, любой локус генома может быть преобразован в пиРНК-кластер, даже локусы белок-кодирующих генов. Существуют целый ряд примеров генных пиРНК-кластеров и регуляции экспрессии генов с помощью пиРНК. Это явление встречается у разных животных, и описанные случаи указывают на то, что генные пиРНК являются частью механизма тонкой тканеспецифичной регуляции экспрессии генов, а не просто побочным продуктом пиРНК-опосредованного сайленсинга МЭ. Однако, генные пиРНК-кластеры обладают большим полиморфизмом даже среди разных популяций одного вида, и пока что остается непонятным, от чего зависит их формирование.

Влияние на формирование пиРНК-кластеров оказывают пиРНК, которые передаются потомкам через цитоплазму яйцеклетки матери и служат целеуказателями для преобразования геномного локуса в пиРНК-кластер. Однако, фактор материнских пиРНК не является исчерпывающим ответом на вопрос о том, от чего зависит образование пиРНК в определенных областях генома.

В этой работе представлено описание генных пиРНК из разных географических популяций *Drosophila virilis*, и паттерна наследования генных пиРНК в межлинейных гибридах. Показано, что материнское наследование генных пиРНК является фактором, детерминирующим экспрессию генных пиРНК в следующих поколениях, а также установлено, что материнское наследование генных пиРНК не всегда приводит к сайленсингу генов.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-74-10050.

**Молекулярно-генетический портрет вируса SARS-CoV-2
в Приморском крае в 2020-2023 годах**

А.А. Белик, Л.М. Семейкина, Е.В. Персиянова, Ю.А. Белов, Н.В. Крылова, М.Ю. Щелканов
ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» Роспотребнадзора,
Владивосток
электронная почта: belik_a_a@mail.ru

Пандемия COVID-19, продолжавшаяся, по данным ВОЗ, с 11 марта 2020 по 5 мая 2023 г., оставила глубокий след в истории науки и медицины. Полученные за этот период данные по структуре, распространению и мутациям вируса SARS-CoV-2 открывают возможности для создания противовирусных препаратов нового типа.

Среди генетических линий вируса SARS-CoV-2, циркулировавших на территории Приморского края в течение пандемии, можно выделить: совокупность ранних геновариантов (март 2020 – июнь 2021 г.), относительно консервативный вариант дельта (июль 2021 – январь 2022 г.) и вариант омикрон, характеризующийся нарастающим количеством мутаций и субвариантов: ВА.1 – с января 2022 г., ВА.2 – с февраля 2022 г., ВА.5 – с июля 2022 г., ХВВ – с февраля 2023 г.

Цель исследования заключалась в том, чтобы понять, в какой степени эволюция вируса SARS-CoV-2 в Приморском крае являлась внутренним процессом, а в какой - следствием проникновения в регион новых вариантов извне, а также оценить критичность тех или иных мутаций для сохранения жизнеспособности вируса.

В ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» Роспотребнадзора из образцов назофарингеальных смывов, изолированных от жителей Приморского края в 2020-2023 годах, была секвенирована 351 полногеномная последовательность вируса SARS-CoV-2. Секвенирование производилось на приборе MinION (Oxford Nanopore Technologies). Изученные нами образцы омикрона были разделены на три группы с двумя, тремя и пятью делециями перед остатком серина S71 в S-белке, причем две делеции появились, начиная с субварианта ВА.1, три – с ВА.2, пять – с ВА.5. Кроме того, образцы как с тремя, так и с пятью делециями также были обнаружены и среди субварианта ХВВ. Было показано, что первый зарегистрированный в крае образец варианта омикрон имел в папаин-подобной протеазе не только характерные для представителей субварианта ВА.1 делецию S1265del и замену L1266I, но и делецию I205del и замену E206K. Интересно отметить, что, начиная с сублинии ВА.2, данные делеции исчезают. У всех образцов, принадлежащих варианту омикрон, в белке вирусной оболочки имелась замена T9I, а также замена T11A у представителей субварианта ХВВ. Единственным исключением стал образец сублинии ВА.2, обнаруженный в 2023 году, у которого в данном белке была обнаружена замена T11A, но не было замены T9I. Важно отметить, что в исследованных образцах был обнаружен ряд уникальных мутаций. В частности, у представителя варианта ВА.2 были обнаружены D61N в белке грб и E39* в белке гр7b. У двух образцов субварианта В.1.1 в белке грб были обнаружены относительно редкие замены F2S. У одного образца ХВВ.2 синтез полипептидной цепи белка грб обрывался на 11-м остатке. В одном из наиболее подверженных мутациям белков гр8 для трёх образцов В.1.1 наблюдалась мутация, приводящая к удлинению цепи до 126 аминокислот, а также уникальная мутация у одного представителя В.1.1, приводящая к изменению аминокислотного состава и сокращению длины цепи до 55 аминокислот.

Таким образом, изучение эволюции вируса SARS-CoV-2, остающегося в человеческой популяции и продолжающего мутировать, необходимо для своевременной оценки эпидемиологической ситуации в стране, создания диагностических тестов и новых противовирусных препаратов.

Сравнительная геномика бактерий рода *Formosa*

Е.П. Быстрицкая¹, О.И. Недашковская¹, Н.Ю. Отставных¹, С.-Г. Ким², М.П. Исаева¹
¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
²Корейская коллекция типовых культур, Центр биологических ресурсов, Корейский научно-исследовательский институт биологических наук и биотехнологий, Республика Корея
электронная почта: ep.bystritskaya@yandex.ru

Род *Formosa* впервые был предложен Ивановой Е.П. с соавт. [1] как член семейства *Flavobacteriaceae* класса *Flavobacteriia* филума *Bacteroidota*, который объединил грамтрицательные, гетеротрофные, аэробные и палочковидные морские бактерии. В настоящее время род *Formosa* включает 7 валидно опубликованных видов, которые были выделены из морской среды, включая арктические воды, моллюсков, донные осадки, зелёные и бурые водоросли. Типовым видом рода является *Formosa algae*, изолированный из бурой водоросли *Fucus evanescens*, собранной в б. Кратерная (Курильские о-ва, Тихий океан). Типовой штамм вида *F. agariphila* КММ 3901^T, выделенный из зелёной водоросли *Acrosiphonia sonderi*, известен способностью деградировать полисахариды разных водорослей [2].

Нами были получены геномы двух штаммов рода *Formosa* из Коллекции морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН: *Formosa* sp. КММ 6136 и *Formosa* sp. КММ 3963, выделенные из зелёной водоросли *Ulva fenestrata* и бурой водоросли *Saccharina japonica*, соответственно. Секвенирование было выполнено на базе платформы MiSeq (Illumina, США). Размеры геномов были оценены в 4,48 и 4,12 млн п.н., а содержание ГЦ пар составило 34,2%. На филогеномном дереве штаммы КММ 6136 и КММ 3963 формируют отдельную ветвь, наиболее близкую к *F. undaria* и *F. agariphila*. Расчетные геномные показатели между исследуемыми и типовыми штаммами ближайших видов составили 86,95-87,03% (ANI), 90,58-90,91% (AAI) и 38,3-43,1% (dDDH), что ниже порогового значения для разделения видов. Это позволяет предположить, что штаммы КММ 6136 и КММ 3963 могут представлять новый вид рода *Formosa*.

Геномный анализ 9-ти представителей рода *Formosa*, показал, что пангеном рода включает 4437 кластеров ортологичных генов. На коровый геном приходится 2658 ортологичных групп, функции большинства из которых связаны с клеточными метаболическими процессами. Установлено, что пангеном рода *Formosa* относится к открытому типу, что свидетельствует о значительном генетическом разнообразии внутри рода и большом количестве событий горизонтального переноса генов. Дальнейший анализ пангенома и отдельных ортологичных групп позволит получить новые сведения об эволюции и адаптационных возможностях видов, а также идентифицировать потенциально важные гены.

Сравнительный анализ геномов показал, что высокий гидролитический потенциал, свойственный типовому штамму *F. agariphila* КММ 3901^T, сохраняется для всего рода, а доля генов, кодирующих углевод-активные ферменты (CAZymes), составляет более 5% от общего количества предсказанных белок-кодирующих последовательностей. Таким образом, штаммы *Formosa* sp. КММ 6136 и *Formosa* sp. КММ 3963 могут представлять биотехнологический интерес как источник гидролитических ферментов, деградирующих и модифицирующих полисахариды водорослей.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075–15-2021-1052.

Ссылки:

1. Ivanova E.P. et al. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2004. V. 54. P. 705-711.
2. Mann A.J. et al. // Appl. Environ. Microbiol. 2013. V. 79, N 21. P. 6813-22.

**Курируемая база метагеномных данных,
ассоциированных с нефтяной промышленностью**

Э.И. Гарифуллина¹, Д.С. Зилов², М.А. Ильина², М.А. Попова², Т.Р. Рахманов¹

¹Альметьевский государственный нефтяной институт, Альметьевск

²Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург

электронная почта: science@piboc.dvo.ru

Трудности, связанные с применением традиционных методов добычи нефти в определенных условиях, а также проблемы, связанные с засорением трубопроводов и низкой нефтеотдачей, являются важными факторами, стимулирующими научные исследования и инновации в области добычи нефти. В последние десятилетия микробное сообщество привлекло особое внимание как потенциальный инструмент для оптимизации и контроля нефтедобычи. Значительный интерес также проявляется к микробному воздействию на снижение негативного влияния нефтепродуктов на окружающую среду и человеческое здоровье на всех этапах процесса добычи и переработки нефти. Хотя классические физико-химические методы широко распространены и используются для этих целей, более качественные и долгосрочные результаты могут быть достигнуты с помощью микробной биоремедиации. Микробиологические методы анализа для таких целей очень трудоемки и малоэффективны, поэтому развитие и распространение получили метагеномные исследования.

В контексте этих вызовов и потребностей мы создали курируемую базу метагеномных данных, ассоциированных с нефтяной промышленностью. В ней мы собрали актуальную, надежную и проверенную информацию о метагеномных анализах образцов из нефтесодержащих систем. Из 50 текстов научных публикаций была извлечена информация о метагеномных исследованиях месторождений из 16 стран. Каждый образец сопровождается полной информацией о месте сбора, физико-химических свойствах среды, а также о научных исследованиях и публикациях, связанных с этими образцами. Это позволит ученым, инженерам и специалистам в области нефтяной промышленности быстро и легко найти релевантные данные, а также использовать эту информацию для разработки новых методов добычи и биоремедиации. Вся информация в нашей базе проходит проверку с помощью встроенных алгоритмов на платформе github.com и проходит нашу собственную верификацию перед внесением, что минимизирует вероятность ошибок и недостоверности данных. Кроме того, наличие ссылок на соответствующие исследования и статьи позволяет пользователям получить полное представление о контексте исследований. Это значительно упрощает процесс поиска, анализа и использования данных, способствуя более эффективному прогрессу в области разработки инновационных методов добычи нефти и биоремедиации.

Курируемая база метагеномных данных, ассоциированных с нефтяной промышленностью, доступна по ссылке <https://github.com/agni-bioinformatics-lab/OilMetagenomesDB>.

**Экспрессия ключевых генов синтеза жирных кислот
в семенах и коробочках *Linum usitatissimum* L.**

Е.М. Дворянинова¹, Л.В. Повхова¹, Е.Н. Пушкова¹, Т.А. Рожмина², А.А. Дмитриев¹,
Н.В. Мельникова¹

¹Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

²Федеральный научный центр лубяных культур, Торжок

электронная почта: dvorianinova@phystech.edu

Лен (*Linum usitatissimum* L.) – ценная сельскохозяйственная культура, возделываемая для производства масла. Жирнокислотный состав льняного масла определяется генами семейств *FAD* и *SAD*. Данная работа была посвящена идентификации ключевых молекулярно-генетических механизмов, определяющих жирнокислотный состав масла в семенах льна.

Типичных представителей девяти сортов и линий льна выращивали в трех вариантах режимов температуры и полива: 16°C, обильный полив; 20°C, умеренный полив; 24°C, скудный полив. Сбор семян и коробочек выполняли на 3, 7, 14, 21 и 28 дни после цветения (ДПЦ). Растительный материал замораживали в жидком азоте, выделяли РНК и готовили библиотеки кДНК. Секвенирование проводили на платформе Illumina (NextSeq 2000, 51+51 п.н.). Полученные чтения обрабатывали, картировали на аннотированный геном льна сорта Атлант (NCBI GenBank, GCA_014858635.1).

Получены профили экспрессии генов *SAD2-1*, *SAD2-2*, *SAD3-1*, *SAD3-2*, *FAD2a-1*, *FAD2a-2*, *FAD2b-1*, *FAD2b-2*, *FAD2c-1*, *FAD2c-2*, *FAD2d-1*, *FAD2d-2*, *FAD2e-1*, *FAD2e-2*, *FAD2f-1*, *FAD2f-2*, *FAD2g-1*, *FAD2g-2*, *FAD2h*, *FAD3a*, *FAD3b*, *FAD3c-1*, *FAD3c-2*, *FAD3d-1*, *FAD3d-2*. На каждой из пяти стадий развития (3, 7, 14, 21 и 28 ДПЦ) образцы разделились по профилям экспрессии генов на две группы – семена и коробочки. Чем выше был температурный режим выращивания растений, тем на более ранних стадиях развития активировалась экспрессия генов семейств *FAD2*, *FAD3*, *SAD* в семенах льна. Для высоких температур также был характерен и более ранний спад экспрессии этих генов. Наиболее заметный эффект был характерен для генов *SAD3-1*, *FAD2b-2*, *FAD3a*, *FAD3b*. Содержание олеиновой кислоты в семенах льна увеличивалось с ростом температуры. При этом генотип оказывал меньшее влияние на содержание данной кислоты, чем условия выращивания.

Исследование поддержано грантом РФФ № 21-16-00111.

Гомологичное моделирование и скрининг РНК-полимераз
растений семейства Зонтичные

Н.В. Иванов

Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия им. К.А. Тимирязева, Москва
электронная почта: nikolay.ivanov@rgau-msha.ru

РНК-полимеразы играют ведущую роль в регулировании гепатопротекторного механизма. Многие компоненты лекарственных растений применяются в качестве гепатопротекторов. Представляет практический интерес использование эфирных масел дудника лекарственного как потенциальных гепатопротекторов. Однако для проведения экспериментов в условиях *in silico* и прогнозирования свойств и степени их взаимодействия с лигандами, требуется проведение анализа филогенетического сродства растительных и животных РНК-полимераз. В таких расчетах используются трехмерные модели молекул белков. В данной работе использовался метод гомологичного моделирования для получения трехмерной модели белков, в частности, были получены трехмерные модели шаблонов РНК-полимераз дудника лекарственного (*Angelica archangelica*). Характеристики полученных структур представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристики трехмерных структур-шаблонов

	Модель 1	Модель 2	Модель 3
Название	ДНК-направленная субъединица РНК-полимеразы Арракача (<i>Arracacia xanthorrhiza</i>)	ДНК-направленная субъединица РНК-полимеразы (<i>Mycobacterium tuberculosis</i>)	ДНК-направленная РНК-полимераза <i>B. subtilis</i>
Олиго-состояние биотина	Monomer	Monomer	Monomer
Seq Similarity	0.61	0.50	0.50
Coverage	1.00	1.00	1.00
Range	1-171	1-171	1-171
Seq Identity	100.00%	66.08%	66.08%
GMQE	0.94	0.79	0.58
QMEANDisCo Global:	-	0.72 ± 0.07	0.55 ± 0.07
QMEAN	-	-0.64	-4.38
C β	-	0.78	-0.67
All Atom	-	-1.10	-2.63
solvation	-	-0.18	-0.62
torsion	-	-0.73	-4.05

Для дальнейших исследований выбран шаблон РНК-полимеразы растения арракача, поскольку ее показатель идентичности (Seq Identity) составляет 100,00 %, и арракача входит с дудником лекарственным в одно семейство Зонтичные (*Apiaceae*).

**Анализ генома морской бактерии 7Alg 153 семейства *Roseobacteraceae*,
несущей гены фотосинтезирующей системы II**

А.И. Иващенко^{1,2}, Н.Ю. Отставных¹, О.И. Недашковская¹, М.П. Исаева¹

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

электронная почта: ivashchenko.ail@dvfu.ru

В результате изучения микробного сообщества зелёной водоросли *Cladophora stimpsonii*, собранной на Морской экспериментальной станции ТИБОХ ДВО РАН в бухте Троицы Японского моря, был выделен бактериальный штамм 7Alg 153 (= КММ 6494), который образовывал колонии розового цвета на морском агаре. Клетки нового штамма были грамотрицательными, аэробными, оксидазоположительными, палочковидными и неподвижными, росли при 1,5-4 % хлорида натрия и до 32°C, и гидролизовали мочевины и твины 20, 40 и 80. Филогенетический анализ, основанный на секвенировании 16S рРНК гена, показал принадлежность штамма 7Alg 153 к семейству *Roseobacteraceae* порядка *Rhodobacterales* класса *Alphaproteobacteria* филума *Pseudomonadota*. Наиболее филогенетически близкими к изоляту были типовые штаммы *Pseudaestuaria rosea* H15T (96,83 %), *Thalassobius litorarius* MME-075T (96,43 %), *Tritonibacter litoralis* SM1979T (96,41%), а с представителями других родов менее 96,36%.

Для более точного определения таксономического положения штамма 7Alg 153 было выполнено геномное секвенирование на платформе MiSeq (Illumina, США). Аннотация генома была проведена на сервере RAST. Геном был собран в 45 контигов с N50 равным 447887 п. н. Размер генома был оценён в 3,872,971 п. н., ГЦ-состав – 54,9 %. Филогеномный анализ, проведённый при помощи онлайн-сервиса TYGS в том числе на протеомных данных, поместил штамм 7Alg 153 к представителям семейства *Roseobacteraceae* (*Pseudaestuaria rosea* H15^T, *Planktomarina temperata* RCA23^T, *Litoreibacter albidus* DSM 26922^T, *Nereida ignava* DSM 16309^T). Рассчитанные показатели ANI, AAI и dDDH между 7Alg 153 с ближайшими типовыми штаммами семейства *Roseobacteraceae* не превышали 76,7 % (с *Litoreibacter albidus* DSM 26922^T), 66,3 % (с *Nereida ignava* DSM 16309^T) и 20,3% (с *Thalassobius mediterraneus* CECT 5383^T) соответственно. Сравнение фотосинтетических генных кластеров 7Alg 153 с упомянутыми выше штаммами показало наличие основных наборов генов фотосинтеза (*bch*, *puh*, *puf*, *crt* и регуляторных генов) [1] у всех штаммов, кроме *Litoreibacter albidus* DSM 26922^T. Полученные данные позволяют предположить, что штамм бактерии 7Alg 153 может представлять новый вид нового рода семейства *Roseobacteraceae*.

Аннотирование с помощью сервера RAST позволило предсказать функцию 28% генов. Поиск генов биосинтеза вторичных метаболитов, выполненный на сервере antiSMASH, показал наличие в геноме генного кластера биосинтеза каротиноидов и гипотетических генных кластеров биосинтеза гомосерина лактона и неизвестного RiPP пептида.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075–15-2021-1052.

Ссылки:

1. Zhang Q. et al. // PLoS One. 2011. V. 6, N. 9. e25050.

**Подходы сравнительной геномики для описания
биотехнологического потенциала морских бактерий**

М.П. Исаева

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: issaeva@gmail.com

Мировой океан покрывает более 70% поверхности Земли и до 95% ее биосферы. Морская среда образует многочисленные экосистемы, в которых большая часть биоразнообразия приходится на микроорганизмы. Наибольшим филогенетическим микробным разнообразием характеризуются морские грунты и осадки. Морские бактерии разработали различные эволюционные механизмы адаптации к экстремальным значениям морской среды: pH, температуре, ограниченной концентрации субстрата, высокому давлению и концентрации солей. Вследствие чего, морские бактерии являются перспективным источником эффективных биокатализаторов, белков и метаболитов. Уже сейчас оценку биотехнологического потенциала морских бактерий можно проводить с помощью секвенирования и аннотирования их геномов. Использование методов сравнительной геномики при описании корового генома, пангенома и синглтонов позволяет исследователю находить межгеномные различия и идентифицировать потенциально новые гены или опероны для синтеза новых биотехнологически ценных молекул. Важным подходом является принятие во внимание концепции «пангенома», когда исследователь определяется с филогенетической кладой для «охвата» всего геномного репертуара и связанного с ним метаболического и биосинтетического потенциалов. Другой подход в исследовании биотехнологического потенциала морских бактерий связан с изучением редких таксонов и анализом уникальной части их генома – синглтона. Важным подходом является анализ мультигенных семейств, установление генов ортологов и паралогов, что способствует пониманию эволюционных процессов нео- и субфункционализации бактериальных ферментов различных метаболических и биосинтетических путей.

Перечисленные подходы сравнительной геномики уже демонстрируют многообещающие результаты в развитии геномного биопроспектинга морских бактерий для голубой биотехнологии. Некоторые примеры использования подходов сравнительной геномики на примере бактерий рода *Zobellia*, а также новых редких таксонов будут представлены в докладе.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075–15-2021-1052.

Использование двухвекторной системы на основе аденоассоциированного вируса для генной терапии миопатии Миоши на модели мышей B6.A-Dysf^{prmd}/GeneJ

Е.В. Кузубова, А.И. Радченко, М.В. Корокин

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород
электронная почта: kuzubova@bsu.edu.ru

Мышечные дистрофии, связанные с дисферлином (также известные как дисферлинопатии), представляют собой группу наследственных заболеваний, которые вызывают прогрессирующую слабость и истощение скелетных мышц в позднем подростковом возрасте. Дисферлинопатии вызываются мутациями в гене дисферлина (*DYSF*), приводящими к полному или частичному отсутствию белка дисферлина. Мыши B6.A-Dysf^{prmd}/GeneJ (BLAJ) моделируют мышечную дистрофию 2В пояса конечностей человека (LGMD2B), которая связана с мутациями в гене дисферлина (*DYSF*).

Целью данной работы являлось проведение исследования двухвекторной системы на основе аденоассоциированного вируса на модели мышей B6.A-Dysf^{prmd}/GeneJ.

В работе использована сублиния мышей B6.A-Dysf^{prmd}/GeneJ (Bla/J), полученная из испытательного центра «Виварно-экспериментальный комплекс ООО «НИИ Митоинженерии МГУ». Когорты животных получены в результате скрещивания мышей линии A/J (#:000646) с мышами дикого типа C57BL/6J. Генотипирование проводили, используя последовательность праймеров из протокола JAX (Protocol 26095).

В ходе работы были сформированы опытные и контрольные группы мышей 6-ти месячного возраста (гомозиготные нокауты – Bla/J n=14, и контрольная группа n=10). Мыши из опытной группы были заколоты исследуемой двухвекторной системой (AAB9-ДИСФ-ДВ) в мышцы задних конечностей (*vastus lateralis*, *tibialis anterior*, *gastrocnemius medialis*, *gastrocnemius lateralis*). После терапии были проведены поведенческие тесты: перевернутая сетка, вынужденное плавание с грузом, удержание животного на скользком вертикальном стержне, удержание на проволоке, сила хватки. Помимо поведенческого тестирования, была проведена иммунофлуоресцентная гистология. Проведены ПЦР в реальном времени и обратная транскрипция для оценки распределения и количества ДНК трансгенного дисферлина.

На основании проведенных тестов в двух временных точках следует, что между экспериментальными группами и контрольными есть статистически значимые различия. На основании анализа данных поведенческого тестирования можно сделать вывод о положительном эффекте препарата в дозе $5 \cdot 10^{12}$ ед. вируса с геном *DYSF* при внутримышечном введении мышам Bla/J с нокаутом гена *DYSF*, также эффективность показала доза $1 \cdot 10^{12}$ ед. вируса при внутримышечном введении, но эффект выражен слабее.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение №075-15-2021-1346.

Ссылки:

1. Begam M. et al. // *Physiol Rep*. 2018. V. 66 N 11. P. 13727.
2. Muthu M. // *Research Results in Pharmacology*. 2022. V. 8. N. 4. P. 167-174.
3. Hornsey M.A. et al. // *Disord*. 2013. V. 23, N 5. P. 377-87.

Компьютерный дизайн потенциальных мультикиназных ингибиторов

Я.В. Лайков, А.Д. Карпенко

Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси, Минск, Беларусь
электронная почта: laykovyan270599@gmail.com

Ингибиторы, влияющие на функцию киназ и фосфатаз, являются перспективными как для биологических исследований, так и для таргетной терапии раковых опухолей. Однако не все ингибиторы представляют интерес для лечения злокачественных новообразований. Некоторые из них неэффективны, другие токсичны. С другой стороны, даже в случае успешной терапии у большинства больных развивается резистентность к применяемым препаратам, приобретенная после длительной химиотерапии. В свою очередь, ограничения монокиназных ингибиторов можно преодолеть, используя мультикиназные ингибиторы, нацеленные на несколько мишеней. Эффективность этих соединений обусловлена синергетическим эффектом, а также снижения вероятности появления резистентности.

В данном исследовании был выполнен первичный этап рационального дизайна лекарственных соединений, включающий разработку лекарств на основе фармакофоров (<https://pharmit.csb.pitt.edu/>), молекулярного докинга (<https://vina.scripps.edu/>), переоценке результатов докинга с использованием нейронных сетей, анализ сайтов связывания для выявления новых потенциальных мультикиназных ингибиторов тирозинкиназы BCR-ABL, ее мутантной формы. T315I, тирозинкиназа JAK2 и серин-треонинкиназа mTOR, которые являются ключевыми в патогенезе хронического миелоидного лейкоза [1,2,3]. Идентифицированы пять соединений (рисунок 1), которые, согласно данным молекулярного исследования, являются потенциальными мультикиназными ингибиторами. Изучение статических моделей лиганд/рецептор показывает, что идентифицированные соединения могут эффективно связываться с биомишенями, изменяя тем самым их конформационную активность и подавляя его деятельность. Из полученных результатов видно, что взаимодействие лигандов с осуществляется в основном за счет ван-дер-ваальсовых контактов (гидрофобных контактов) и водородных связей. Также в ряде случаев встречаются солевые мостики, пи-пи/Т-стэкинг, катион-π-взаимодействия.

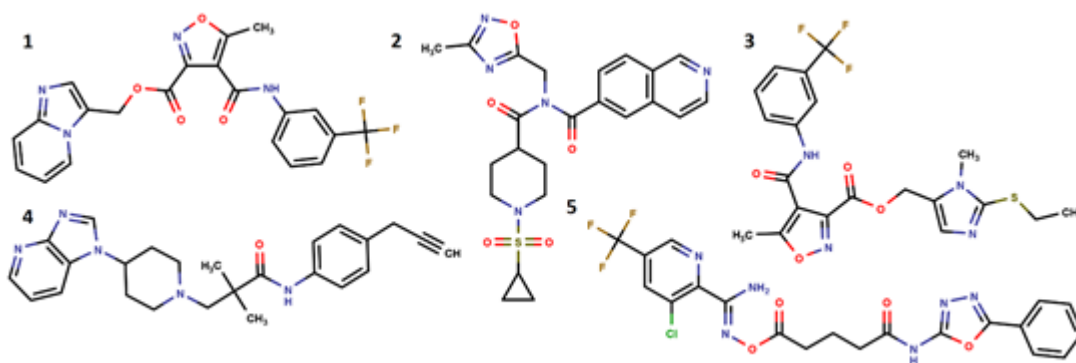


Рисунок 1 – Химические структуры потенциальных мультикиназных ингибиторов

Представленные соединения являются потенциальными мультикиназными ингибиторами и могут служить хорошей основой для создания новых противоопухолевых препаратов, способных эффективно действовать против хронического миелоидного лейкоза.

Ссылки:

1. Brown N. et al. // ACM Computing Surveys. 2009. V. 1. 38 p.
2. Pinzi L. et al. // International Journal of Molecular Sciences. 2019. V.1. 23 p.
3. Li J. et al. // Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences. 2019. V. 1. 9 p.

Наука из жизни и про жизнь – биоинформатика

А.Л. Лapidус

Центр биоинформатики и алгоритмической биотехнологии,
Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
электронная почта: a.lapidus@spbu.ru

Биоинформатика – одна из самых бурно развивающихся наук нашего времени. Это не совокупность методов, не инструмент анализа. Это новая Наука, обладающая своей структурой, набором инструментов и методологий, широким разнообразием областей исследования, совокупностью знаний.

В настоящее время биоинформатика представлена учебными дисциплинами и программами, конференциями и школами, сообществом журналов, разнообразными сервисами.

В полном соответствии с определением Науки биоинформатика охватывает широчайшую сферу познавательной деятельности людей. Представляет собой систему объективно-истинного знания о природной и социальной действительности, о самом человеке и окружающей его среде во всех сферах ее проявления.

Непосредственной целью биоинформатики как науки является постижение истины и открытие объективных законов на совершенно ином, ранее недоступном уровне с недоступной ранее широтой охвата проявлений жизни.

Биоинформатик – это ученый, который способен формулировать задачи исследований и анализировать молекулярно-биологические данные, полученные для их решения. Он также может разработать и применить на практике вычислительные методы и создавать программные продукты для решения таких задач как сборка геномов, анализ транскриптомов, предсказание функций генов, генетической диагностики заболеваний, конструирования лекарственных препаратов, построение моделей происхождения видов, оценки их разнообразия и многое-многое другое. При этом биоинформатик обладает фундаментальными знаниями в той или иной области наук о жизни и хорошо понимает методы работы с данными и способы их хранения.

Огромный интерес к биоинформатике и все возрастающая потребность в кадрах обусловлены развитием технологий определения первичных последовательностей биологически-активных молекул, падением стоимости геномного секвенирования, накоплением огромных объемов медико-биологических данных и развитием методов работы с ними, увеличением вычислительных мощностей современных компьютеров.

Возникнув на заре первых геномных проектов, биоинформатика шагнула во все сферы науки о жизни и уже даже сложно обозначить области, в которых она не применима. Тем важнее знакомить молодежь с этой интереснейшей наукой, читая популярные лекции о биоинформатике, повсеместно внедряя в образовательный процесс магистерские программы и программы бакалавриата, создавая кафедры биоинформатики во всех высших учебных заведениях.

Только широкая базовая подготовка специалистов в области науки 21 века биоинформатики позволит преодолеть острую нехватку таких кадров.

Работа центра поддержана грантом СПбГУ № 102392615.

**Изучение генома *Bacillus* sp. – эндофита винограда *Vitis amurensis* Rupr.,
эффективного антогониста возбудителя серой гнили у растений**

З.В. Огнева, О.А. Алейнова, Н.Н. Нитяговский, А.А. Ананьев, К.В. Киселев
ФНЦ биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: zlata.v.ogneva@gmail.com

Наиболее серьезными проблемами, с которыми сталкиваются при выращивании винограда, являются патогенные микроорганизмы, которые приводят к снижению урожайности и качества плодов. В связи с этим биоконтроль становится все более привлекательным в виноградарстве, учитывая текущую тенденцию сокращения использования химических пестицидов из-за их негативного воздействия на окружающую среду и безопасность человека. Эндофитный микробиом винограда является важным источником средств биоконтроля. Эндофиты способны продуцировать полезные для растения соединения и вырабатывать вещества, подавляющие рост и развитие патогенов.

Широко распространенным заболеванием винограда является серая гниль, вызываемая грибом *Botrytis cinerea*. Известно, что некоторые штаммы бацилл, таких как *Bacillus halotolerans*, *B. amyloliquefaciens* и *B. velezensis* проявляют активность против основных послеуборочных гнилей растений. Ранее нами было показано, что выделенный из листьев дикорастущего винограда *Vitis amurensis* штамм *Bacillus* sp. BSO проявлял антимикробную активность в отношении возбудителей винограда, в том числе и *B. cinerea*. Для определения причин такого влияния на патогенные микроорганизмы было произведено полногеномное секвенирование штамма BSO при помощи секвенатора Oxford Nanopore (Великобритания) на базе ООО «Геноаналитика» г. Москва. Филогенетический анализ, проведенный на основе последовательностей гена *16S* рРНК, с помощью индексов ANI и dDDH, показал, что штамм, ранее определенный как *Bacillus* sp., наиболее близок к *B. velezensis* FZB42. Далее было решено называть культивируемый штамм *B. velezensis* BSO. Геном *B. velezensis* BSO имеет одну кольцевую хромосому длиной 3,909,646 п.н. с 3689 открытыми рамками считывания. Геномный анализ выявил десять кластеров генов, участвующих в нерибосомальном синтезе поликетидов (макролактин, бациллен и диффицидин), липопептидов (сурфактин, фенгицин, бацилизин) и бактериоцинов (диффицидин). Также, исследуемый геном содержит ряд генов, вовлеченных в корневую колонизацию и образование биопленок, включая *sacB*, экзополисахаридный оперон *epsA-O*. Кроме того, геном *B. velezensis* BSO кодирует ферменты, субстраты которых имеют растительное происхождение, такие как гены *xynA*, *xynD*, кодирующие ксиланазу, *bglC*, *bglS*, кодирующие глюканазу и *ganA-lacR* оперон, кодирующий ферменты утилизации галактозы. *B. velezensis* BSO также содержит гены, необходимые для синтеза индол-3-уксусной кислоты (*yhcX*, *dhaS* и *ysnE*), ацетоина и 2,3-бутандиола (*alsD*, *alsS*, *alsR* и *bdhA*). Известно, что эти соединения усиливают рост растений и вызывают системную устойчивость. Несмотря на результаты анализов ANI и dDDH, средняя длина выравнивания генома *B. velezensis* BSO с геномом *B. velezensis* FZB42 составила всего 2,833,407. При этом 137 генов были уникальными для *B. velezensis* BSO - это гены, кодирующие транспозазы, консервативные белки семейства фактора вирулентности С, различные АВС-транспортеры и трансмембранные белки, белки биосинтеза флагеллина, NUDIX гидролаза и ряд других генов с неизвестной функцией.

Таким образом, эндофитные бактерии дикорастущего винограда *B. velezensis* BSO являются перспективным для создания биопрепаратов для защиты растений от биотического стресса.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-74-10001.

**Многоступенчатые нарушения альтернативного сплайсинга РНК
при FUS-протеинопатии в моторных нейронах**

А.П. Резвых¹, А.А. Устюгов², К.Д. Чапров², Е.В. Тетерина², В.О. Небогатиков², Д.С. Спасская¹,
М.Б. Евгеньев¹, А.В. Морозов¹, С.Ю. Фуников¹

¹Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

²Институт физиологически активных веществ РАН, Черноголовка

электронная почта: aprezvykh@yandex.ru

Нарушение функции РНК-связывающего белка FUS, участвующего в РНК-метаболизме, может быть причиной бокового амиотрофического склероза (БАС) и других нейродегенеративных заболеваний. Мутации в гене FUS, вызывающие неконтролируемое цитоплазматическое накопление мутантного FUS-белка, способны приводить к формированию нерастворимых белковых агрегатов (FUS-протеинопатии) и нарушениям альтернативного сплайсинга. Однако, точный механизм, по которому мутации в гене FUS могут вызывать БАС, остаётся неясным. Мы описали паттерн изменений альтернативного сплайсинга мРНК в динамике, прогрессирующей FUS-протеинопатии, вызванной цитоплазматическим накоплением FUS-белка. Мы показали, что понижение удержки интронов FUS-ассоциированных транскриптов отражает патогенез БАС и является одним из наиболее ранних изменений при прогрессии БАС-патологии. В ходе нарастания агрегации FUS-белка, нарушения альтернативного сплайсинга становятся более сложными и включают в себя снижение вставки нейроспецифичных микроэкзонов и индукцию криптического сплайсинга, вызванную поглощением FUS-агрегатами ряда РНК-связывающих белков. Характерный паттерн aberrантного сплайсинга также наблюдался в спинном мозге пациентов, страдавших от семейных и спорадических форм БАС. Мы доказали, что нарушение ядерной функции FUS и его последующая цитоплазматическая агрегация является причиной многоступенчатых нарушений альтернативного сплайсинга РНК.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-74-10050.

**Реконструкция механизмов транскрипционной регуляции ответа
на цитокинин у *Arabidopsis thaliana* L.**

Ю.А. Рябов¹, В.А. Долгих^{1,2}

¹Новосибирский государственный университет, Новосибирск

²Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

электронная почта: todorokyn@gmail.com

Цитокинины – важная группа фитогормонов, регулирующих деление клеток в различных тканях и органах растений. Цитокинины используются в сельском хозяйстве и биотехнологии, поэтому исследование молекулярного механизма их действия является актуальной задачей. В клетке цитокинины активируют транскрипционные факторы (ТФ) семейства В-ARR, которые связываются с последовательностью (A/G)GAT в промоторах генов. Эти ТФ способны формировать гомо- и гетеродимерные комплексы между собой и с другими ТФ, что может отражаться в специфической организации цис-элементов в регуляторных районах чувствительных к цитокинину генов. Таким образом, целью данной работы является реконструкция механизмов транскрипционной регуляции ответа на цитокинин у *Arabidopsis thaliana* L.

Мы осуществили интегрированный анализ данных ChIP-seq для ТФ ARR1, ARR10 и ARR12, а также данных секвенирования цитокинин-индуцированных транскриптомов (RNA-seq) проростков *A. thaliana* из открытых источников. В результате показано, что ТФ ARR1, ARR10 и ARR12 имеют тенденцию связываться с одними и теми же участками ДНК; участки, связываемые хотя бы двумя транскрипционными факторами, составляют 99%, 59% и 65% пиков для ARR1, ARR10 и ARR12, соответственно. Отдельно стоящие мотивы, содержащие консервативный тетрауклеотид AGAT (но не их пары), значимо обогащены в пиках ChIP-seq для ARR1, ARR10 и ARR12, а также в 5'-регуляторных районах генов, активируемых цитокинином. Вероятно, связывание пары AGAT-содержащих мотивов димером В-ARR не является необходимым условием функционирования этих транскрипционных факторов. Предсказана важная роль цис-элементов, не содержащих консервативный тетрауклеотид AGAT, сходных с сайтами связывания ТФ семейств WRKY, bZIP, bHLH, TCP и др., в регуляции ответа на цитокинин, в том числе в подавлении активности генов. Кроме того, было показано, что большая часть обнаруженных мотивов демонстрирует значимое обогащение в центральных областях пиков, а частота их встречаемости в периферийных районах не превосходит случайное ожидание. Можно предположить, что цитокинин-активированные ТФ В-ARR, помимо связывания AGAT-подобного мотива в ДНК, взаимодействуют с другими ДНК-мотивами через ТФ-посредники.

Таким образом, можно предположить, что ТФ семейства В-ARR активно взаимодействуют с другими ТФ в регуляции транскрипционного ответа на цитокинин.

Исследование поддержано грантом РФФ № 20-14-00140.

Научный руководитель: канд. биол. наук, с.н.с. Е.В. Землянская.

**Транскриптомный анализ льна
с использованием пробоподготовки, основанной на Tn5**

Е.А. Сигова¹, Л.В. Повхова¹, Е.Н. Пушкова¹, Т.А. Рожмина², Е.М. Дворянинова¹,
А.А. Дмитриев¹, Н.В. Мельникова¹

¹Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

²Федеральный научный центр лубяных культур, Торжок

электронная почта: sigova.ea@phystech.edu

Лен (*Linum usitatissimum* L.) выращивают для получения волокна и семян. Сорты льна различаются по хозяйственно ценным признакам семян. Установление молекулярно-генетических механизмов, определяющих характеристики семян льна, необходимо для эффективной селекции этой сельскохозяйственной культуры. Наша работа посвящена оценке эффективности применения пробоподготовки кДНК-библиотек для высокопроизводительного секвенирования, основанной на использовании тагментазы Tn5.

Растения десяти генотипов льна, различающихся по жирнокислотному составу масла и содержанию лигнанов в семенах, выращивали в климатических камерах при 16°C, 20°C и 24°C. Семена собирали на 3, 7, 14 и 21 дни после цветения. Пробоподготовку кДНК-библиотек проводили для одних и тех же образцов РНК с использованием двух различных подходов: 1) коммерческого набора QIAseq Stranded mRNA Library Kit (Qiagen, США), в котором к фрагментам кДНК-дуплекса проводится лигирование необходимых для секвенирования адаптерных последовательностей; 2) тагментазы Tn5 для фрагментации РНК-ДНК дуплекса и добавления необходимых для секвенирования адаптерных последовательностей [1]. Секвенирование проводили на Illumina NextSeq 2000 (Illumina, США). Полученные чтения картировали на геном льна сорта Атлант (NCBI GenBank, GCA_014858635.1). Анализ экспрессии генов выполняли с использованием PPLine [2].

В результате секвенирования 240 транскриптомных библиотек (120 подготовлены набором QIAseq и 120 с применением Tn5) в среднем для каждого образца получено около 5 млн. чтений (51 + 51 нуклеотид). Анализ профилей экспрессии генов показал, что для каждого из использованных вариантов пробоподготовки вместе группируются в первую очередь образцы близких стадий развития семян. Температурный режим также влиял на профили экспрессии генов в обоих подходах для пробоподготовки кДНК-библиотек. Использование Tn5 позволило получить сопоставимые с коммерческим набором результаты анализа профилей экспрессии генов в семенах льна. Применение пробоподготовки транскриптомных библиотек, основанной на тагментазе Tn5, существенно снижает затраты на анализ одного образца, и этот подход имеет перспективы дальнейшего использования в исследованиях экспрессии генов растений.

Исследование поддержано грантом РФФ № 21-16-00111.

Ссылки:

1. Di L. et al. // Proc Natl Acad Sci U S A. 2020. V. 117, N 6. P. 2886-2893.
2. Krasnov G.S. et al. // J Proteome Res. 2015. V. 14, N 9, P. 3729–3737.

**Исследование метаболизма L-аминокислот бактерией *Corynebacterium glutamicum*
методами математического моделирования**

М.Ф. Трофимова

Новосибирский государственный университет, Новосибирск

Производство аминокислот в настоящий момент является вторым по экономической значимости процессом в промышленной биотехнологии. Наибольшую актуальность сейчас имеет технология производства с применением микроорганизмов, в том числе бактерий. Для достижения высоких скоростей синтеза и секреции аминокислот такими бактериальными фабриками требуется исследование метаболических путей целевых штаммов. Один из перспективных методов исследования заключается в использовании математического и компьютерного моделирования. В данной работе исследуем бактерию *Corynebacterium glutamicum*, хорошо зарекомендовавшую себя в биотехнологической индустрии. Исследуется метаболизм L-аминокислот, которые активно используются в животноводстве, медицине и других областях промышленности.

В ходе исследования использовался язык программирования Python, библиотеки cobraPy [1] и Pandas. Для построения метаболических карт и визуальной интерпретации результатов моделирования использовалась программа Escher [2]. В рамках работы выполнена адаптация математической модели *C. glutamicum* iCGB21FR [3] в исследовании возможных путей повышения синтеза L-аминокислот. Созданы протоколы по оценке максимально возможной экскреции L-аминокислот на различных источниках углерода, оценке перспективных мутаций в штамме бактерии. Была построена серия метаболических карт, отражающих ключевые моменты метаболизма и возможные точки воздействия на него.

Ссылки:

1. Официальный сайт библиотеки cobraPy. URL: <https://opencobra.github.io> (дата обращения: 15.08.2023).
2. Официальный сайт визуализатора Escher. URL: <https://escher.github.io> (дата обращения: 15.08.2023).
3. Feierabend M. et al. // Front. Microbiol. 2021. V. 12:750206.

**Изучение тканеспецифичной экспрессии HMRG-полипептидов *Heteractis magnifica*
с использованием ампликонного секвенирования**

В.Е. Чаусова, Н.Ю. Отставных, Е.П. Быстрицкая, М.П. Исаева
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: v.chausova@gmail.com

Морские актинии относятся к одному из старейших существующих отрядов ядовитых животных. Как и многие другие ядовитые животные, актинии продуцируют яд, состоящий из многокомпонентной смеси небольших молекул – пептидов и белков. Установлено, что токсины актиний воздействуют на различные фармакологические мишени, такие как ионные каналы, воспалительные рецепторы или порообразующие белки в клеточных мембранах. Наблюдалось также проявление антигипергликемической и антидиабетической активности у экстрактов актиний. Несмотря на большое количество публикаций, актинии до сих пор являются перспективным и недостаточно исследованным источником новых и уникальных фармакологических инструментов или терапевтических агентов пептидной природы.

При генетическом исследовании любых видов организмов определение их таксономической принадлежности является ключевым этапом. Применение молекулярно-генетических методов является актуальным и наиболее достоверным подходом, поскольку генетический материал менее подвержен влиянию внешних условий, в отличие от изменчивых морфологических признаков. В данной работе видовую идентификацию двух особей тропических актиний *H. magnifica* проводили на основе трех филогенетических маркеров: 18S рРНК, COI и ITS.

Изучение тканеспецифичной экспрессии HMRG-полипептидов актиний *H. magnifica* с использованием ампликонного секвенирования проводили на образцах тканей тела и щупалец двух особей. Полученные прочтения, соответствующие ампликонам HMRG-полипептидов, были процессированы и дереплицированы: осуществлена коррекция ошибок секвенирования, удаление прочтений низкого качества (<Q10) и прочтений, содержащих последовательности гомополимеров, определено количество и представленность уникальных прочтений. Для оценки качественного и количественного разнообразия изоформ HMRG-полипептидов была построена диаграмма Венна. Для тканей тела обеих особей характерно одинаковое количество изоформ HMRG-полипептидов, общих изоформ не обнаружено. Для тканей щупалец характерно структурное разнообразие HMRG-полипептидов и разница в уровне экспрессии – в 2,3 раза, но обнаружены две общие изоформы. Две изоформы HMRG-полипептидов, экспрессирующихся как в тканях тела, так и в тканях щупалец были обнаружены у обеих актиний.

Таким образом, показано, что HMRG-полипептиды экспрессируются в обоих видах тканей актиний *H. magnifica*, причем в щупальцах уровень экспрессии может отличаться у индивидуумов и она выше, чем в тканях тела. Именно в щупальцах обнаружена высокая вариабельность изоформ, что может быть связано с индивидуальными потребностями организма.

**Поиск агрономически ценных штаммов эндофитных бактерий
на основании анализа их геномов**

В.К.Чеботарь¹, Е.П. Чижевская¹, М.С.Ганчева^{1,2}

¹Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии,
Санкт-Петербург

²Кафедра генетики и биотехнологии Биологического факультета Санкт-Петербургского
государственного университета, Санкт-Петербург
электронная почта: vladchebotar@rambler.ru

Эндофитные микроорганизмы – это организмы, которые способны проникать и колонизировать внутренние ткани растения, не вызывая у них каких-либо симптомов заболевания [1,2]. Бактериальными эндофитами называют бактерии, живущие в растительных тканях без нанесения вреда для хозяина и без получения выгоды большей, чем от привычного места их обитания в окружающей среде [3]. Эндофитные бактерии способны колонизировать внутренние ткани растений, обладая неоспоримым преимуществом по сравнению с ризосферными и эпифитными бактериями [4]. Кроме того, эндофитные бактерии обладают рядом функциональных свойств (фиксация молекулярного азота, мобилизация труднорастворимых форм фосфора, продукция фитогормонов, биоконтроль фитопатогенов и др.), которые необходимы для развития растения-хозяина. Поэтому эндофитные бактерии можно рассматривать как наиболее перспективный ресурс для создания микробиологических препаратов для растениеводства.

Анализ данных полногеномного секвенирования штаммов эндофитных бактерий позволяет осуществить направленный поиск целевых хозяйственно-ценных генов, определяющих практическую ценность штамма. Нами проводились работы по аннотации геномов эндофитных бактерий, выделенных из различных сельскохозяйственных и дикорастущих растений. Так, при анализе генома эндофитного штамма *Bacillus safensis* TS3, выделенного из стеблей томата, выращенного на засоленной почве, показано, что существенная его часть (>6%) отвечает за продукцию разнообразных ростостимулирующих и антистрессовых метаболитов [5]. К ним относятся индолилуксусная кислота (ИУК), летучие метаболиты, органические кислоты, витамины, совместимые осмолиты, экзополисахариды, антиоксидантные ферменты и металлоредуктазы. Кроме того, в геноме TS3 имеется 10 кластеров (~3% генома), отвечающих за синтез антимикробных пептидов, включая пумилацидин (поверхностно-активное вещество биологического происхождения) и два сидерофора. Благодаря продукции этих метаболитов *Bacillus safensis* TS3 отлично подходит для использования в качестве микробиологического биостимулятора в экстремальных сельскохозяйственных условиях.

Исследование поддержано грантом РФФ № 23-66-10013.

Ссылки:

1. Schulz B., Boyle C. // Eds. C.J.C. Boyle, T.N. Sieber. Berlin: Springer-Verlag, 2006. P. 191–206.
2. Hardoim P.R. et al. // Trends Microbiol. 2008. V. 16. P. 463–471.
3. Chen C. et al. // Biological Control. 1995. V.5, N. 1. P. 83-91.
4. Чеботарь В.К. и др. // Прикладная биохимия и микробиология. 2015. Т. 51, № 3. С.1-8.
5. Chebotar et al. // Microbiol Resour Announc. 2022. e0081622.

Анализ кластеров генов вторичного метаболизма
термофильного штамма *Streptomyces*

В.Н. Шелковникова¹, М.Е. Дмитриева¹, Н.А. Потапова², А.Ю. Бельшенко¹, Е.В. Малыгина¹,
Н.А. Имидоева¹, М.М. Моргунова¹, А.А. Власова¹, Т.Ю. Тельнова¹, Д.В. Аксёнов-Грибанов¹

¹Иркутский государственный университет, Иркутск

²Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва

электронная почта: shelkovnikova551@gmail.com

Микроорганизмы, выделенные из экстремальных экологических ниш, имеют ряд адаптаций к неблагоприятным условиям и низкую степень своей изученности. Это делает их высокоэффективными фабриками по производству новых природных соединений.

Целью данного исследования являлась оценка состава кластеров генов вторичного метаболизма термофильного штамма *Streptomyces* 019-1HS. Штамм выделен из байкальской губки *Lubomirskia baikalensis* и идентифицирован по гену 16S рНК.

Геном был секвенирован на платформе Illumina MiSeq. Полнота сборки была проверена с помощью BUSCO (v. 5.4.7) и набора данных streptomycetales_odb 10. Геном аннотирован с применением сервиса Prodigal (v. 2.6.3), функциональная аннотация выполнена с помощью eggNOG-mapper (v. 2.1.9). Потенциал штамма к синтезу вторичных метаболитов проанализирован с применением инструмента antiSMASH v.7. Кластеры с идентичностью более 80% были включены в анализ.

В ходе исследования было собрано 95% всего генома. Штамм идентифицирован как вид *Streptomyces thermodiastaticus*. Обнаружено 5 кластеров генов вторичного метаболизма с идентичностью более 80% и 14 кластеров с меньшей идентичностью. В ходе работ обнаружен кластер поликетидсинтазы III типа, ответственный за синтез таких соединений, как флавиолин и 1,3,6,8-тетрагидроксиафталин. Флавиолин является продуктом спонтанного окисления 1,3,6,8-тетрагидроксиафталина, который синтезируется бактериями. Также был обнаружен кластер поликетидсинтазы II типа, ответственный за синтез курамицина и спорового пигмента. Курамицин является антибиотиком с поликетидным каркасом, состоящим из модифицированной орселлиновой кислоты. Кластер терпенов, ответственных за синтез геосмина, также был обнаружен в геноме термофильного штамма. Геосмин является широко известным метаболитом, обуславливающим земляной запах. Выявлен кластер, ответственный за синтез десферриоксамина E, также известного как Нокардамин. Десферриоксамин E представляет собой антиоксидант, антибиотик и сидерофор. Данная молекула является широко распространенным метаболитом для бактерий рода *Streptomyces*. Более того, десферриоксамин E играет большую роль непосредственно для бактерий данного рода, а именно стимулирует их рост, дифференцировку клеток и индуцирует синтез антибиотиков. Ранее с применением подходов масс-спектрометрии высокого разрешения нами показано, что данный штамм синтезировал данное соединение при температурах 28 °C и 37 °C и не синтезировал при температуре 12 °C. Также был обнаружен кластер синтеза эктоина. Данное соединение защищает клеточную мембрану от повреждений, и ранее было описано только для экстремофильных микроорганизмов.

В ходе предыдущих работ показано, что штамм *Streptomyces* 019-1HS синтезирует большое количество новых природных соединений. Учитывая, что большинство кластеров имели низкую схожесть с известными соединениями, можно предположить, что данные кластеры обеспечивают синтез новых природных соединений.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № FZZE 2021-0013.

Реассортация в геноме нового штамма *Cyrovirus-1*,
выделенного из *Dendrolimus sibiricus*

М.Е. Якимова^{1,4}, С.А. Боднев², Н.И. Ершов³, В.В. Мартемьянов¹

¹Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск

²Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово

³Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

⁴Новосибирский государственный университет, Новосибирск

электронная почта: yakimova.2138@gmail.com

Сегментация вирусных геномов делает возможным обмен генами между родственными вирусами при коинфицировании. Этот тип рекомбинации называется реассортацией. Она происходит за счет кроссинговера или хромосомной сортировки, во время которой целые сегменты меняются местами. Такие эволюционные события служат механизмом приспособления к изменяющимся условиям внешней среды, включая расширение круга хозяев [1].

В данной работе был описан новый штамм *Cyrovirus-1*, выделенный из естественного хозяина - сибирского шелкопряда (*Dendrolimus sibiricus*). Уникальной особенностью *DsCPV1* является очень широкий круг хозяев в пределах отряда [2]. Этот факт делает его потенциальным кандидатом для массового производства биологических средств для борьбы с чешуекрылыми вредителями. Геном секвенированной двухцепочечной РНК *DsCPV-1* состоит из 10 линейных сегментов общей длиной 24,7 т.п.н. Геном кодирует 10 белков: четыре структурных белка капсида, два компонента комплекса транскрипционных ферментов (РНК-зависимая РНК-полимераза и NTPase/VP4), три неструктурных белка и полиэдрин. Филогенетический анализ показал, что он, скорее всего, возник в результате рекомбинации между штаммами *D. punctatus* CPV-1 (*DpCPV1*) и *L. dispar* CPV-1 (*LdCPV-1*), включающей замену третьего сегмента генома (белок А-шипа/VP2) *DpCPV-1* на его гомолог *LdCPV-1* (рисунок 1). Возможность такого эволюционного механизма дополнительно подтверждается доказательствами того, что коинфекция несколькими штаммами CPV происходит в естественных популяциях, в том числе и в хозяине *Lymantria dispar* [3]. Можно предположить, что расширение круга хозяев *DsCPV-1* может быть связано с реассортацией гена белка шипа-А, ответственного за функцию проникновения вируса в клетки хозяина [4].

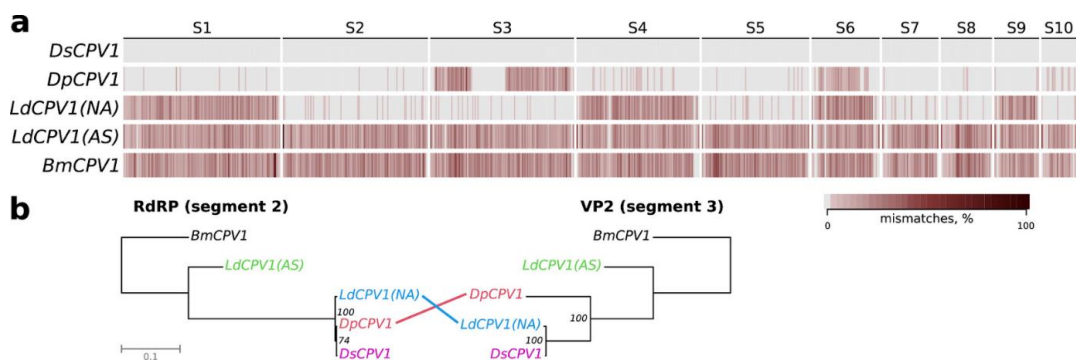


Рисунок 1 – (а) тепловая карта различий в геномах между *DsCPV-1* и другими CPV-1; (б) топологическое несоответствие между деревьями сегментов 2 и 3

Исследование поддержано грантом РФФ № 21-46-07005.

Ссылки:

1. Lowen A.C. // PLoS Pathog. 2018. V. 14, N 9:e1007200.
2. Martemyanov V.V. et al. // Virology. 2023. V. 11, N 3:e0385522.
3. Pavlushin S.V. et al. // Virus Res. 2021. V. 297, P. 198371.
4. Cheng C. et al. // General Virology. 2014. V. 95. P. 1532-1538.

Экспрессия генов иммунного ответа колорадского жука на грибные инфекции

О.Н. Ярославцева¹, У.Н. Роцкая¹, Е.С. Косман¹, Ю.А. Носков¹, Э.М. Кабирова², В.С. Фишман²,
М.Е. Старчевская², Д.В. Антонец², В.Ю. Крюков¹

¹Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск

²Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

электронная почта: yarosl@inbox.ru

С помощью транскриптомного секвенирования и количественной ПЦР изучена экспрессия генов в личинках колорадского жука при развитии грибных инфекций *Beauveria bassiana* и *Metarhizium robertsii*. Транскриптомное секвенирование гемоцитов и тканей жирового тела дало более 50 миллионов целевых прочтений на образец. Существенные различия между контрольными и инфицированными личинками обнаружены более чем для 200 генов, принадлежащих к следующим группам: процессинг белков в эндоплазматическом ретикулуме, биогенез рибосом, метаболизм аминокислот и нуклеотидных сахаров, иммунные сигнальные пути, мембранный транспорт, убиквитин-опосредованный протеолиз, деградация РНК, экспорт белка и взаимодействие SNARE белков при везикулярном транспорте. В транскриптомных профилях инфицированных личинок наблюдались незначительные различия между *B. bassiana* и *M. robertsii*. Количественная ПЦР в различных тканях (кутикула, жировое тело и средний кишечник) при инфицировании *B. bassiana* или *M. robertsii* выявила дифференциальную регуляцию генов, принадлежащих факторам транскрипции DorsalDif (путь Toll), NFκB (путь IMD), Stat (Jak-Stat), а также к антимикробным пептидам (аттацин, акалолептин), рициновому-β-лектину, ингибитору металлопротеиназ (*impi*), одорант связывающему пептиду (*obp*), кишечному протеину (*Mesh*) и белкам теплового шока (БТШ70, БТШ90). Предварительные результаты по сайленсингу генов показали, что инъекция дцРНК, интерферирующая NFκB и Stat, повышает восприимчивость личинок колорадского жука к *B. bassiana* после инокуляции конидиями. Полученные результаты могут способствовать разработке новых подходов к биологической регуляции численности колорадского жука.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-14-00309.

БИОРАЗНООБРАЗИЕ, СИСТЕМАТИКА И ГЕНЕТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ КАК ОСНОВА БИОБАНКОВ И БИОРЕСУРСНЫХ КОЛЛЕКЦИЙ

Хемотаксономическая паспортизация биокolleкции паразитарных штаммов спорыньи

А.А. Волнин, Г.В. Адамов, Н.С. Цыбулько, П.С. Савин, С.Б. Мясникова
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических
растений», Москва
электронная почта: volnin.a@mail.ru

Спорынья является важнейшим источником лекарственного сырья (эргоалкалоидов). Некоторые из алкалоидов могут быть специфичны для определенных штаммов спорыньи и могут использоваться в качестве хемотаксономических маркеров при их идентификации [1]. Для культивирования и селекции промышленных штаммов-продуцентов необходимо точное и быстрое определение алкалоидов с целью подтверждения соответствия образцов соответствующим штаммам (хемотаксономической паспортизации). В представленной работе рассмотрены особенности применения обращенно-фазовой ВЭЖХ для идентификации эрготамина, эргометрина, эргокрестина, α -, β -эргокриптинов, эргокорнина с целью паспортизации селекционных промышленных штаммов паразитарной спорыньи из биокolleкции ФГБНУ ВИЛАР. Спорынья культивировалась на озимой ржи. Было отобрано 12 склероциев от 3 штаммов: ВКМ F-3410 D (эргокрестин) $n=6$, ВКМ F-2641 D (эрготамин) $n=3$, ВКМ F-2450 D (эрготоксин) $n=3$. Алкалоиды экстрагировали метанолом на шейкере в течение 2 часов. Образцы анализировали с использованием ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием Shimadzu Prominence-I LC-2030C 3D (Shimadzu, Япония). Хроматографическая колонка Phenomenex Luna 5 μ m C18 250 мм \times 4,6 мм (Phenomenex, США). Подвижная фаза «А» – 0,2 % раствор муравьиной кислоты в воде, подвижная фаза «В» – 0,2 % раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле. Использовали стандартные растворы: эргокрестин, эрготамин, эргометрин, $\alpha+\beta$ эргокриптины ($\sim 1:1$, α -эргокрестин $\leq \beta$ -эргокрестин), эрготоксин (эргокорнин + $\alpha+\beta$ эргокриптины, 50,7% :39,8% :9,5% соответственно). Время удерживания для исследованных эргоалкалоидов представлено в таблице:

	алкалоид	время удерживания, мин.
штамм-продуцент эрготамина	эрготамин	25.4
	эргометрин	7.67
штамм-продуцент эрготоксина	эргокорнин	25.61
	α -эргокрестин	27.19
	β -эргокрестин	27.42
	эргометрин	7.67
штамм-продуцент эргокрестина	эргокрестин	27.83

Таким образом, использование различных стандартных образцов эргокриптина ($\alpha+\beta$) и эргокорнина ($+\alpha+\beta$) с соотношением компонентов 5:4:1 позволило нам четко идентифицировать каждый пик при анализе стандартных образцов и образцов склероциев паразитарной культуры спорыньи.

Исследования проводились в рамках работ с биообъектами уникальной научной установки «Биокolleкции ФГБНУ ВИЛАР». Работа выполнена в рамках темы НИР ФГБНУ ВИЛАР «Формирование, сохранение и изучение биокolleкций генофонда различного направления с целью сохранения биоразнообразия и использования их в технологиях здоровьесбережения» (FGUU-2022-0014).

Биоразнообразие фомоидных грибов, ассоциированных с соей, в коллекции чистых культур микромицетов лаборатории Микологии и фитопатологии ВИЗР

М. М. Гомжина, Е. Л. Гасич

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург
электронная почта: gomzhina91@mail.ru

Соя – перспективная культура, активно возделываемая в России. Расширение посевов и увеличение доли сои в севооборотах способствует накоплению инфекционного потенциала фитопатогенных микромицетов. Аскохитоз сои – широко распространённое заболевание, которое вызывают несколько близкородственных видов фомоидных грибов. Фомоидные грибы (*Phoma sensu lato*) – крупная, таксономически гетерогенная группа микромицетов, многие роды и виды которых являются фитопатогенами, приводящими к существенным потерям урожая.

Одним из ключевых элементов для понимания того, как возникают, распространяются болезни растений и как с ними можно бороться, является выявление и корректная идентификация их возбудителей. Известно, что достоверное определение фомоидных грибов до таксонов уровня вида может быть осуществлено только в рамках полифазного подхода на основании исследования комплекса признаков: в качестве основных молекулярно-филогенетические, в качестве дополнительных – микроморфологические, культуральные и др. Таксономически информативными локусами ДНК, используемыми для реконструкции филогении в этой группе грибов являются ITS-локус, участки генов, ответственные за синтез β -тубулина (*tub2*) и второй большой субъединицы фермента РНК-полимеразы II (*rpb2*).

В результате фитосанитарного мониторинга посевов сои, проводимого с 2017 г, были собраны листья с симптомами аскохитоза, из которых в чистую культуру было выделено более 100 изолятов фомоидных грибов. Образцы листьев и выделенные изоляты хранятся в двух биоресурсных коллекциях: Микологическом гербарии (ЛЕР, ВИЗР) и коллекции чистых культур микромицетов лаборатории Микологии и фитопатологии (МФ, ВИЗР). Для 40 изолятов была реконструирована молекулярная филогения, оценены микроморфологические признаки спороносных структур – пикнид и конидий. Дополнительно были исследованы культуральные особенности изолятов на трёх питательных средах: картофельно-сахарозной, овсяной и солодовой.

В анализируемой коллекции 32 изолята были идентифицированы как виды родов *Boeremia* и *Didymella* – традиционные представители микобиоты листьев сои. Восемь изолятов были определены как необычные и редкие виды: *Neosascochyta graminicola*, *Remotididymella capsici*, *Stagonosporopsis heliopsisidis* и *Stagonosporopsis stuijvenbergii*. *Neosascochyta graminicola* распространён в Европе, США и Новой Зеландии на растениях семейства *Poaceae*. *Remotididymella capsici* был выявлен в ассоциации с листьями перца в России и на Фиджи. *Stagonosporopsis stuijvenbergii* был описан из образцов почвы, собранной в Нидерландах, а изоляты *S. heliopsisidis* были обнаружены в США, Канаде, Нидерландах, России, только со сложноцветных растений.

Таким образом, виды *N. graminicola* и *S. stuijvenbergii* были впервые выявлены на территории России в Рязанской и Амурской областях соответственно. Кроме того, соя впервые была зарегистрирована как растение-хозяин для всех четырёх выявленных видов грибов.

Обычно аскохитоз сои вызывают виды родов *Didymella*: *D. pinodella*, *D. pinodes*, *D. rotorum* и др., поэтому находки грибов *N. graminicola*, *R. capsici*, *S. heliopsisidis* и *S. stuijvenbergii* являются редкими и уникальными. В результате оценки патогенности изолятов этих грибов в отношении сои было установлено, что таким свойством они не обладают, по всей вероятности, развиваются сапротрофно или эндофитно в листьях сои. Микобиота листьев сои обогатилась на четыре новых вида фомоидных грибов.

Исследование поддержано грантом РФФ № 19-76-30005.

**Поиск новых бактериофагов, специфичных
в отношении бактерий рода *Rhodococcus* и *Corynebacterium***

Д.Д. Дербиков¹, Н.Р. Косенко^{1,2}, А.В. Попова^{1,3}, А.С. Яненко¹

¹Геномный центр ККГИ НИЦ «Курчатовский институт» - ГосНИИгенетика, Москва

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

³Московский политехнический университет, Москва

электронная почта: den_derb@mail.ru

Актинобактерии *Rhodococcus* и *Corynebacterium* имеют практическое значение как деструкторы трудноусваиваемых природных и антропогенных соединений (лигнин, бифенилы, нефть) и продуценты биологически активных соединений (аминокислоты, белки). Редактирование генома этих бактерий осложняется слабыми механизмами рекомбинации в этих клетках [1]. Для преодоления этих трудностей в генетической инженерии обычно используют экзогенные рекомбиназы, облегчающие встраивание необходимого фрагмента ДНК в хромосому клетки хозяина. Этот класс ферментов описан у многих архей, прокариот и эукариот, однако в практической работе наибольший интерес представляют рекомбиназы из бактериофагов [2].

Бактериофаги являются наиболее многочисленной группой вирусов, представленной в биосфере [3]. В природных условиях бактериофаги обычно обитают в тех же экосистемах, где встречаются чувствительные к ним бактерии. Для бактерий рода *Rhodococcus* и *Corynebacterium* это обычно почвы, богатые органическим веществом - верхние гумусовых горизонтах почвы или опады.

Целью данной работы был поиск и выделение бактериофагов, специфичных в отношении бактерий рода *Rhodococcus* и *Corynebacterium*. Поиск проводился в различных почвенных образцах, полученных из различных природных зон (лиственные леса, смешанные леса, лесостепь, степь), полученных в летний период на территории Московской, Тульской, Липецкой, Воронежской и Волгоградской областей, а также в образцах компоста разной степени разложения и помете гусеницы. В качестве накопительных культур были использованы штаммы *Rhodococcus rhodochrous* M8, *Rhodococcus qingshengii* TA37 и *Corynebacterium glutamicum* B39.

В результате было выделено 5 изолятов бактериофагов, специфичных в отношении *Rhodococcus rhodochrous* M8, 3 изолята бактериофагов для *Rhodococcus qingshengii* TA37 и 2 изолята для *Corynebacterium glutamicum* B39. Все изоляты давали четкие негативные колонии на поверхности тестовой культуры на чашке Петри. Изоляты были очищены и переданы в национальный биоресурсный центр ВКПМ НИЦ «Курчатовский институт». Также, из образцов было проведено выделение ДНК. Выделенная ДНК в настоящее время также отправлена на секвенирование в НИЦ «Курчатовский институт».

Работа была выполнена при финансовой поддержке Тематического плана НИЦ «Курчатовский институт».

Ссылки:

1. Sun M., et al. // Microb Cell Fact. 2020. V. 19, P. 113.
2. Chang Y. et al. // Appl Microbiol Biotechnol. 2021. V. 105. P. 5067–5075.
3. Ackermann H.W. // Res Microbiol. 2003. V. 154, N 4. P. 245-51.

**16S рРНК профилирование донных осадков Охотского моря
(залив Академии, Ульбанский залив)**

В.И. Еремеев, Ю.В. Савичева, Н.Ю. Отставных, Л.А. Романенко, М.П. Исаева
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: wieremeew@gmail.com

Залив Академии Охотского моря является одним из объектов изучения явления импульсной эвтрофикации. Сочетание интенсивных приливных течений, концентрирующих органический материал, и активной миграции морских животных, в том числе изолированной популяции горбатых китов, делает экосистему залива уникальной и интересной как с научной, так и с практической точки зрения. С целью изучения таксономического состава микробных сообществ Ульбанского залива, входящего в состав залива Академии, было проведено амплифицирование и секвенирование V3-V4 регионов 16S рРНК. В качестве матрицы были взяты образцы суммарной геномной ДНК, выделенной из образцов грунта 18 станций, отобранных в сентябре 2020 года в ходе экспедиции ТОИ ДВО РАН [1].

По данным альфа-распределения (Shannon index) для каждого образца была достигнута достаточная для оценки таксономического состава глубина секвенирования. По данным бета-распределения (UniFrac, Bray-Curtis) таксономический состав образцов значительно отличался. В наибольшей степени от остальных образцов отличалась станция L5, что может быть объяснено периодическим осушением грунта в ходе приливо-отливных циклов. Таксономическое распределение микроорганизмов было неравномерным и колебалось в широких пределах в зависимости от станции. Самыми распространенными типами были: *Proteobacteria* (12% (S23) - 37% (S50)), *Bacteroidota* (8,6% (S23) - 20,2% (S50)), *Desulfobacterota* (3,9% (S32) - 19,2% (S15)), *Verrucomicrobiota* (3,5% (S28) - 8,2% (S18)), *Thermoproteota* (1,2% (L5) - 12,4% (S28)) и *Cyanobacteria* (0,5% (S22) - 13% (S46)). Среди семейств наиболее распространены были *Flavobacteriaceae* (1,7% (S23) - 9,4% (L5)), *Nitrosopumilaceae* (0,7% (L5) - 12,4% (S32)), *Coleofasciculaceae* (0,5% (S22) - 12,8% (S46)), *Woeseiaceae* (1,4% (S23) - 6,25% (L5)) и *Haliaceae* (1% (S23) - 6,1% (S18)). Кроме того, наблюдалось от 0,9% (S46) до 5,9% (S15) последовательностей, таксономическая принадлежность которых была определена только до уровня царства. Образец S23 характеризовался наиболее равномерным распределением таксонов, а с наиболее неравномерным был образец S50. В соответствии с предсказанием метаболических путей для микробных сообществ, выполненным при помощи инструмента PICRUST2, в образцах грунта высокую распространенность имели такие пути как PWY-3781 (aerobic respiration I (cytochrome c)), PWY-5101 (L-isoleucine biosynthesis II), PWY-7663 (gondate biosynthesis (anaerobic)) и PWY-5973 (cis-vaccenate biosynthesis).

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2021-1052.

Ссылки:

1. Тищенко П. Я. и др. // Океанология. 2022. Т. 62, № 1, С.98-111.

Формирование микробиоты колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata*

С. Жангисина, Т.Н. Клементьева, О.В. Поленогова, В.В. Глупов
Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск
электронная почта: saule.zhangisina@gmail.com

Микробиота играет важную роль в физиологических процессах насекомых, включая пищеварение, поведение, а также чувствительность к патогенам и инсектицидам [1,2]. Формирование микробиоты у фитофагов начинается со стадии яйца и может изменяться в процессе онтогенетического развития насекомых [3], что может влиять на многие жизненно важные функции организма хозяина. Изменения в микробиоте колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Crysomelidae) в процессе онтогенеза естественной популяции не изучены; поэтому целью данного исследования было сравнить структуру бактериального сообщества колорадского жука на разных стадиях развития, от яйца до личинки и взрослой особи, и определить наличие или отсутствие основной микробиоты.

В данном исследовании было проанализировано бактериальное разнообразие на разных стадиях жизненного цикла (яйца, личинки и кишечника взрослых особей) колорадского жука с помощью высокопроизводительного метагеномного секвенирования 16S rRNA. Анализ изменений состава микробиома на стадиях развития (яйца, личинки, взрослые особи) показал, что наиболее распространенным таксоном бактериального сообщества колорадского жука являются виды Proteobacteria (> 50%) и реже Firmicutes (3%), что указывает на наличие энмотипа у жуков. Протеобактерии были представлены таксонами на уровне рода *Pantoea* sp., что было подтверждено и количественной оценкой в микробиологических посевах. Интересно, что значительная доля представителей Firmicutes – *Lactococcus lactis* (около 25%) была обнаружена в яйцах жуков, а в кишечнике взрослых жуков доминирующее положение (до 78%) занимали *Spiroplasma leptinotarsa* (Tenericutes).

Дальнейшие исследования бактериального сообщества колорадского жука, сосредоточенные на стадии яйца и взрослых особей, смогут пролить свет на более глубокое понимание сложных ассоциаций между микробиотой и хозяином, а кроме того, помогут в разработке новых подходов в контроле численности колорадского жука.

Исследование поддержано грантом РФФ №22-76-10051.

Ссылки:

1. Broderick N. A. *et al.* // BMC Biol. 2009. V. 7. N. 11.
2. Xia X. *et al.* // Front. Microbiol. 2018. V. 9. N. 25.
3. Chen B. *et al.* // Sci. Rep. 2016. V. 6. N. 29505.

**Бактериальные сообщества бентонитов месторождений
Таганское, Зырянское и 10-й Хутор**

А.В. Закусина¹, В.С. Чепцов¹, И.И. Толпешта¹, В.В. Крупская²

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

²Институт геологии и минералогии рудных месторождений, петрографии,
минералогии и геохимии РАН, Москва

электронная почта: a.zakusina@gmail.com

На территории Российской Федерации планируется проводить захоронение высокоактивных радиоактивных отходов (РАО) в пункте глубинного захоронения, который будет расположен в Красноярском крае на участке «Енисейский» на глубине около 500 м [1]. Для обеспечения безопасности при захоронении требуются исследования изолирующих свойств системы инженерных барьеров. В систему входит слой изоляционного материала, который, как планируется, будет состоять из бентонита. Важной характеристикой глин является состав населяющих их микроорганизмов. Микроорганизмы могут влиять на изоляционные свойства инженерных барьеров безопасности. В частности, выделение газов микроорганизмами может приводить к растрескиванию глин. Некоторые виды бактерий могут влиять непосредственно на состав бентонитов, в процессе жизнедеятельности изменяя рН и Eh, используя различные минеральные и органические вещества для получения энергии. Сульфатредуцирующие бактерии выделяют сероводород, являющийся одним из самых опасных для захоронения РАО метаболитов, так как может вызывать коррозию стали, которая является одним из основных компонентов контейнеров для радиоактивных отходов [2]. Из этого следует, что для прогнозирования процессов, происходящих в захоронении РАО, большое значение имеют знания о микроорганизмах, населяющих бентониты.

Нами проведена инкубация бентонитов месторождений Таганское, Зырянское и 10-й Хутор, компактированных до плотности 1.2, 1.45 и 1.7 г/см³ и увлажненных до наименьшей влагоемкости, в течение 3 месяцев при +60°C. Таким образом были смоделированы условия захоронения РАО. Далее из контрольных и инкубированных образцов была выделена ДНК с применением набора FastDNA[®] SPIN Kit for Soil с рядом модификаций (повышение осмотической силы раствора, концентрации фосфатов, добавление этанола на этапе лизиса клеток) в связи с высокой сорбционной способностью глин и низкой микробной биомассой. Для оценки количества и качества выделенной ДНК проводилась ПЦР в реальном времени с праймерной системой Eub338+Eub518 с использованием ПЦР-смеси БиоМастер HS-qPCR (Биолабмикс, Россия). В дальнейшем было выполнено высокопроизводительное секвенирование V3-V4 области гена 16S рРНК на платформе Illumina MiSeq. Данные секвенирования анализировали с помощью пакета Mothur v 1.48 в соответствии с протоколом MiSeq_SOP с таксономической идентификацией по базе SILVA SSUr v138. В докладе будет обсуждено разнообразие прокариот и структура микробных сообществ исследованных бентонитов.

Ссылки:

1. Сафонов А. В. и др. //Радиоактивные отходы. 2019. №. 2. С. 92-100.
2. Abramova E.S. et al. // Applied Biochemistry and Microbiology. 2022. V. 58, N. 9. P. 1021-1028.

Первичная оценка биоразнообразия грибных симбионтов трюфельных грибов

Н.А. Имидоева, Е.В. Малыгина, М.Е. Дмитриева, А.Ю. Бельшенко, В.Н. Шелковникова,
М.М. Моргунова, А.А. Власова, С.В. Кулинич, Д.В. Аксёнов-Грибанов
Иркутский государственный университет, Иркутск
электронная почта: nat.imidoeva@gmail.com

Трюфельные грибы относятся к гипогезным грибам, плодовые тела которых образуются благодаря микоризному симбиозу с корневой системой растений. Данные грибы являются малоизученной группой организмов и внимание их биотехнологической значимости практически не уделено. В настоящее время число истинных трюфелей, собираемых в дикой природе, снижается. Поэтому одним из перспективных направлений на сегодняшний день выступает разработка методик культивирования трюфельных грибов в контролируемых лабораторных условиях. Разнообразное и сложное микробное сообщество симбионтов, включающее бактерии, дрожжи и грибы, интенсивно колонизирует трюфели на всех стадиях их жизненного цикла, что затрудняет получение его чистой культуры.

Целью исследования является выделение и идентификация чистых культур грибов-симбионтов трюфелей, оказывающих значительный вклад в получении его мицелия, для разработки методов борьбы с ними. Для этого фрагменты глебы плодовых тел черного трюфеля *Tuber* sp. были гомогенизированы в стерильной дистиллированной воде и посеяны газоном на солодовый и картофельно-декстрозный агар. Для предотвращения контаминации в среды были добавлены антибиотики, такие как цефтриаксон и фурацилин.

Далее, выделенные 12 грибных культур были идентифицированы как грибы, принадлежащие родам *Trichothecium* sp., *Fusarium* sp., *Bjerkandera* sp., *Clonostachys* sp., *Amphinema* sp., *Inocube* sp., *Peniophora* sp., *Huorhovichia* sp., *Plectosphaerella* sp. Известно, что *Trichothecium* sp., *Bjerkandera* sp., и *Clonostachys* sp. являются фитопатогенами, а грибы рода *Fusarium* sp. – эндофиты грибов и растений. *Amphinema* sp., *Peniophora* sp., *Inocube* sp. присутствуют в почве, в которой растут трюфельные грибы. Большинство известных грибов рода *Plectosphaerella* были выделены из почв. Они являются патогенами для нескольких видов растений, однако ранее представители данных родов никогда не упоминались как организмы, входящие в состав микробиома трюфелей. Грибы рода *Huorhovichia* sp. являются симбионтами трюфелей, однако, данные о роли этих грибов также немногочисленны.

Таким образом, учитывая полученное на данном этапе разнообразие грибных симбионтов трюфелей, можно предположить, что данные грибы играют роль в формировании плодовых тел трюфельных грибов. Данное исследование дает новое и актуальное представление о микробиоме трюфелей, расширяет область исследования российских трюфелей и поднимает вопросы, касающиеся функционирования и эволюции грибов, ассоциированных с трюфельными грибами.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 22-76-10036.

Разнообразие и эволюция микроорганизмов глубинной подземной биосферы

В.В. Кадников¹, А.В. Белецкий¹, А.В. Марданов¹, О.В. Карначук², Н.В. Равин¹

¹Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

²Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск

электронная почта: vkadnikov@bk.ru

Экстремофильные микроорганизмы, в первую очередь термофилы, активно исследуются последние два десятилетия. Они представляют интерес как для фундаментальных исследований, поскольку большинство термофилов представляют эволюционно древние формы жизни, встречающиеся в уникальных экосистемах, так в качестве биотехнологически-значимых объектов. Одной из наименее изученных экологических ниш является подземная биосфера, где нагрев пород и пластовых вод на глубинах до нескольких километров создает условия для развития термофильных микробных сообществ. Подземные экосистемы являются одними из крупнейших мест обитания микроорганизмов, они могут оставаться изолированными на протяжении тысяч-миллионов лет и не зависеть от поступления органического вещества с поверхности.

Целью работы является исследование разнообразия, возможных биогеохимических функций и биотехнологического потенциала термофильных микроорганизмов, обитающих в глубинных подземных водах Западной Сибири (Томская область). Мы исследовали микробное сообщество подземных термальных вод, вытекающих с глубины около 2 км через нефтепоисковую скважину. Для характеристики сообщества было проведено два эксперимента - молекулярная идентификация микроорганизмов с помощью секвенирования фрагментов генов 16S рибосомной РНК и секвенирование полного метагенома.

Таксономический анализ на основе 16S рРНК показал преобладание бактерий филумов *Firmicutes*, *Chloroflexota*, *Nitrospirota* и *Desulfobacterota*, а также «некультивируемых» линий бактерий, в т.ч. кандидатных филумов *Ca. Riflebacteria*, *Ca. Aminicenantes* и *Ca. Sumerlaeota*. Только 30% последовательностей 16S РНК можно отнести к культивируемым родам. В результате секвенирования и сборки метагенома получено 25 геномов микроорганизмов, суммарно представляющих около 90% всего метагенома. В докладе будут представлены результаты геномного анализа микроорганизмов подземной биосферы, в том числе реконструкции путей их метаболизма и функциональной роли в подземных экосистемах, особенностей эволюции и глобального распространения, будут представлены экологические модели подземных экосистем.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-14-00178.

**Грибы рода *Aspergillus* P. Micheli, ассоциированные с морскими субстратами:
их фенотипическое, молекулярно-генетическое разнообразие
и биотехнологический потенциал**

Н.Н. Киричук, В.Е. Чаусова, Ю.В. Худякова, Е.А. Чингизова, М.В. Пивкин
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: kirichuk_natalya@bk.ru

Грибы морских экосистем представляют собой довольно обширную и разнообразную в таксономическом отношении эколого-физиологическую группу микроорганизмов. Судя по распространению и разнообразию занимаемых трофических ниш, микромицеты играют значительную роль в функционировании морских экосистем.

Микромицеты из рода *Aspergillus* являются одними из постоянных компонентов морских микробных сообществ и часто выделяются из различных морских субстратов растительного и животного происхождения, а также морского грунта. Нами изучено разнообразие и биотехнологический потенциал грибов из рода *Aspergillus*, выделенных из различных мест обитания Японского и Южно-Китайского морей (морской грунт, водоросли, губки, морской ёж). Для определения видовой принадлежности 17 штаммов грибов был использован полифазный подход, основанный на изучении фенотипических и молекулярно-генетических признаков. Филогенетический анализ микромицетов на основе фрагментов генов ITS, BenA, CaM и RPB2 показал принадлежность изученных штаммов грибов к 12 видам из подродов *Nidulantes*, *Circumdati*, *Aspergillus* и *Fumigati*. Большая часть видов принадлежала к подроду *Nidulantes*, секции *Nidulantes*, серии *Versicolores*: *A. jensenii*, *A. venenatus*, *A. tabacinus*, *A. creber*, *A. sydowii*, *A. protuberus*. Вторым по числу видов оказался подрод *Circumdati*: *A. aculeatinus*, *A. nigri* (секция *Nigri*), *A. terreus* (секция *Terrei*). Два вида принадлежали к подроду *Aspergillus*: *A. niveoglaucus*, *A. proliferans* (секция *Aspergillus*, серия *Aspergillus*); один вид – к подроду *Fumigati*: *Aspergillus* sp.

Согласно литературным данным, четыре вида из 12 изученных постоянно выделяются из морских мест обитания (*A. niger*, *A. protuberus*, *A. sydowii*, *A. terreus*), что послужило основанием включить их в список морских мицелиальных грибов (Jones, 2015). Представители серии *Versicolores* являются космополитами и практически всегда присутствуют на различных морских субстратах. В данном случае виды из этой серии были выделены из морского грунта, водорослей *Chondrus* sp. и *Padina* sp., трепанга *Apostichopus japonicus*, морского ежа *Scaphechinus mirabilis*, из губки. Чаще всего встречался вид *A. jensenii*.

Вышеперечисленные штаммы грибов были изучены на способность продуцировать метаболиты с антибиотической активностью. Этилацетатные экстракты более чем 50% исследованных штаммов оказались способными к синтезу антибактериальных и антимикотических соединений, проявляющих ингибирующую активность в концентрации 100 мкг/мл. Из них два штамма *A. jensenii* (КММ 4756 и КММ 4769), выделенные из трепанга и бурой водоросли *Padina* sp., а также штаммы грибов *A. niger* КММ 4771 и *A. aculeatinus* КММ 4770, выделенные из губок Южно-Китайского моря, показали антимикотическую активность по отношению к *Candida albicans*. Суммарный экстракт штамма гриба *A. niger* КММ 4771 также показал антибактериальную активность по отношению к *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Таким образом, изученные морские грибы могут быть новыми потенциальными источниками получения биологически активных соединений.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075–15-2021-1052.

Ссылки:

1. Jones E.B.G. et al. // Fungal Divers. V. 73. P. 1–72.

**Микробные ассоцианты колорадского жука в период гибернации,
роль динамики параметров иммунитета в развитии инфекции**

Е.С. Косман¹, У.Н. Рощая¹, В.Ю. Крюков¹, О.В. Поленогова¹, Я.Ю. Чумакова, В.В. Морозова²,
О.Н. Ярославцева¹, Ю.А. Носков¹

¹Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск
электронная почта: elena-kda@yandex.ru

Колорадский жук является одним из самых распространенных и опасных картофельных вредителей в мире. Для него характерен период зимней диапаузы, во время которой насекомые способны выживать при низких температурах. В период диапаузы у жука возникают грибные и бактериальные заболевания, способные значительно сокращать численность популяции [1]. Кроме того, активно разрабатываются методы биологического контроля на основе энтомопатогенных грибов и бактерий, которые могут снижать численность вредителя [2]. Колорадский жук – инвазивный вид на территории западной Сибири, поэтому понимание его микробных ассоциантов и иммунных реакций во время зимней диапаузы могут дать ценную информацию о механизмах его динамики численности.

В настоящей работе проведено выделение и генотипирование грибов и бактерий из погибших во время гибернации жуков. Кроме того, мы изучили изменения в экспрессии генов колорадского жука, связанных с наиболее важными иммунными сигнальными путями Toll (транскрипционный фактор *dorsaldif*), IMD (транскрипционный фактор *nfb*) и Jak–Stat (транскрипционный фактор *stat*). Каскад Toll связан с защитой от грамположительных бактерий и грибов, путь IMD в основном связан с защитой преимущественно от грамотрицательных бактерий, а сигнальный путь Jak–Стат против вирусов, а также грибов и бактерий [4–6]. Также была измерена экспрессия гена ингибитора металлопротеиназ насекомых (IMPI), который инактивирует протеиназы патогенных микроорганизмов [7].

Работа проводилась в 2021–2022 гг, на опытной станции Карасук (ИСиЭЖ СО РАН). Имаго колорадского жука содержались в специальных садках, где докармливались картофельной ботвой и затем самостоятельно уходили в почву. Всего было проанализировано 2000 жуков. В результате мы выделили и генотипировали более 50 культур энтомопатогенных грибов (*Beauveria*, *Isaria*) и более 50 бактериальных ассоциантов, относящихся к родам *Pseudomonas*, *Serratia*, *Kluyvera*, *Sphingobacterium*, *Microbacterium*, *Rhodococcus*, *Brucella*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Lactococcus* и *Brevibacterium*. Мы показали понижение экспрессии факторов транскрипции путей Toll, IMD и Jak–Stat у колорадского жука во время диапаузы в зимние месяцы и их резкое повышение в мае, когда температура почвы достигала значений +10 – +14°C. В то же время активировалась ассоциированная с жуком и почвой микробиота, вызывающая гибель насекомого. Проведенный анализ микробных сообществ и выявленные закономерности динамики иммунных реакций в период гибернации вносят вклад в разработку прогноза численности и биологического контроля колорадского жука. Полученные культуры могут быть использованы для создания биопрепаратов против вредителя.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-14-00309.

Ссылки:

1. Cingel A. et al. // Int. J. Mol. Sci. 2016. V. 17, N. 9. P. 1538.
2. Weber D.C. et al. // Insect Pests of Potato / Academic Press. 2022. Ch. 13. P. 231–276.
3. Wei G. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. 2017. V. 114. P. 5994–5999.
4. Geng T. et al. // Gene. 2016. V. 595. P. 69–76.
5. Ramirez J.L. et al. // Dev. Comp. Immunol. 2018. V. 95. P. 1–9.
6. Butt T.M. et al. // In Advances in Genetics / Academic Press. 2016. V. 94. P. 307–364.
7. Vilcinskis A. et al. // Virulence. 2010. V. 1. P. 206–214.

**Образование пены при культивировании штамма
Corynebacterium glutamicum-продуцента валина снижается
при инактивации гена эстеразы**

Т.Е. Крокунова, М.Е. Шереметьева, Т.Е. Шустикова
Геномный центр ККГИ НИЦ «Курчатовский институт», Москва
электронная почта: igenetic@yandex.ru

L-валин – важное природное соединение, незаменимая аминокислота, широко применяемая в животноводстве в качестве кормовой добавки. Потребление валина постоянно растёт, что делает актуальной задачу увеличения его производства. В настоящее время основной способ получения валина – биотехнологический, с использованием микроорганизмов-продуцентов. Один из наиболее распространённых базовых микроорганизмов для создания продуцентов АК – почвенная бактерия *Corynebacterium glutamicum*, безопасная для человека и животных, неприхотливая и генетически стабильная. Эта бактерия в настоящее время используется для производства нескольких миллионов тонн аминокислот в год [1]. Одной из проблем культивирования *C. glutamicum* является активное пенообразование. Некоторые белки и продукты распада жиров являются основным фактором пенообразования [2,3]. Описаны ферменты *C. glutamicum*, эстеразы NCg10336, NCg10717 и NCg12912, связанные с пенообразованием [4].

Была предсказана пространственная структура эстеразы NCg10717, сконструирована и наработана интегративная плаزمиды, содержащая делетированный ген данной эстеразы и получен штамм *C. glutamicum* с делецией гена эстеразы NCg10717, сохранивший уровень продукции валина и нуждавшийся в меньшем количестве пеногасителя при ферментации в аэробных биореакторах.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Тематического плана НИЦ «Курчатовский институт».

Ссылки:

1. Henke N. A. et al. // Genes. 2018. P. 219.
2. Бирюков В.В. и др. // Основы промышленной биотехнологии // М.: КолосС. 2004. С. 296.
3. Linke D. et al. // Journal of the American Oil Chemists' Society. 2009. P. 437-444.
4. Lee P. et al. // Microorganism having improved L-lysine productivity and method for producing L-lysine using same: пат. 10208325 США. 2019.

**Влияние физических факторов на уровень токсинов и вирулентности
бактерий *Bacillus thuringiensis* subsp. *thuringiensis***

А.А. Круговых

Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск

электронная почта: nutachka90@mail.ru

Бактерии *Bacillus thuringiensis* (БТ) являются действующим веществом биологических препаратов для контроля численности насекомых вредителей. Основными факторами вирулентности БТ выступают токсины и споры данных микроорганизмов. Как и на все микроорганизмы влияние на эти бактерии оказывают химические, биологические, физические факторы, которые могут подавлять или наоборот ускорять развитие микроорганизмов, изменять их свойства или вызвать гибель. Из физических факторов наибольшее влияние оказывают такие факторы как влажность, температура, ультрафиолетовое излучение.

Целью данного исследования было изучить влияние физических факторов (температура, влажность, ультрафиолет) на уровень токсинов и вирулентность бактерий *Bacillus thuringiensis* subsp. *thuringiensis*.

Исследование проводилось на базе ФГБОУ ВО НГАУ в лаборатории биологической защиты растений и биотехнологий. Объектами исследования служили бактерии *Bacillus thuringiensis* subsp. *thuringiensis*. Для изучения влияния физических факторов образцы бактерий подвергались воздействию температуры 40–45⁰С экспозиция 10 часов, влажности 45–50% экспозиция 12 часов, ультрафиолетовому излучению, экспозиция 12 часов, для контроля титра культуры, активности экзотоксина и биологической активности применялись общепринятые методики.

Наибольшее влияние на бактерии *Bacillus thuringiensis* subsp. *thuringiensis* оказывает ультрафиолетовое излучение и температура. Так, с помощью микроскопического анализа было установлено, что в этих образцах практически отсутствовали кристаллы бактерий. При исследовании сгу-токсинов данные белки не обнаружены в образцах после воздействия ультрафиолетом и повышенной температуры. При определении активности бета экзотоксина по пятну на хроматограмме в образцах после воздействия ультрафиолета и повышенной температуры свечение токсина отсутствовало. При постановке биотеста наибольшая смертность была в контрольном варианте и в образцах после воздействия повышенной влажности. Наименьшая смертность была отмечена в образце после воздействия на БТ ультрафиолета.

Исследование поддержано грантами РФФ № 22-16-20031 и Правительства Новосибирской области № р-4.

**Коллекция морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН –
хранилище генофонда морского микробного разнообразия**

В. В. Куриленко, Л.А. Романенко, О.И. Недашковская, В.В. Михайлов
Тихоокеанский институт биорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: valeie@piboc.dvo.ru

В Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Тихоокеанском институте биорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук в 1985 году была создана лаборатория микробиологии и Коллекция морских микроорганизмов. В Коллекции изучают морские гетеротрофные бактерии и грибы-микросцисты, выделенные из различных образцов, собранных из всех регионов Мирового океана, включая Арктику и Антарктику, во время экспедиций на борту НИС «Академик Опарин» и других научно-исследовательских судов. Учеными КММ валидно описано около 200 новых видов, 50 родов и 10 новых семейств морских бактерий и 5 новых видов грибов. Благодаря связям с учеными по всему миру Коллекция морских микроорганизмов получила широкую известность и является членом Всемирной федерации коллекций культур (WFCC, <http://www.wfcc>) и имеет официальный номер 644 и международный акроним КММ.

Исследования, проводимые сотрудниками Коллекции совместно с учеными нашего института, всегда были объединены единой тематикой: изучением фундаментальных биологических свойств и вытекающего из них экологического и биотехнологического потенциала морских микроорганизмов. Подходы, основанные на принципе «биоразнообразие-экология-биотехнология», позволили обнаружить ряд микробных продуцентов необычных биоактивных соединений, таких как рН-зависимые цитостатики, сурфактины, антибиотики. Обнаружены и изучены штаммы-продуценты таких ферментов как щелочные фосфатазы, тирозиназы, каррагиназы, эластазы, нуклеозидкиназы, β -1,3-глюканазы, α -галактозидазы, фукоиданазы и некоторые другие.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075–15-2021-1052.

**Физиология новых представителей рода *Thermoanaerobacterium*
с гидролитической активностью, выделенных
из отходов сельскохозяйственных животных**

А.П. Лукина, К.Г. Власова, Л.Б. Глухова, О.В. Карначук
Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск
электронная почта: anastasiya-lukina-93@mail.ru

Компостирование – технология для превращения биоразлагаемых твердых отходов в органические удобрения. Микроорганизмы, участвующие в процессе компостирования выделяют гидролитические ферменты, такие как целлюлаза, целлобиаза, ксиланаза, амилаза, липаза и протеаза. Целлюлоза, наиболее распространенный возобновляемый ресурс на Земле, а ее естественная деградация представляет собой важную часть цикла углерода в биосфере. Представители класса *Clostridia*, разлагающие целлюлозу, используются для производства растворителей, таких как ацетон, этанол и бутанол, которые можно использовать в качестве биотоплива или химических строительных блоков. Термофильные представители рода *Thermoanaerobacterium* способны производить этанол с выходом эквивалентным дрожжам. Ферментная система целлюлазы *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* включает в себя фермент β -глюкозидазу, который используется в качестве вкусового фермента для усиления вкуса вина, чая и фруктовых соков. Изучение физиологии микроорганизмов с гидролитической активностью важно для изучения ферментных систем и их дальнейшего применения в промышленности и биотехнологии.

Чистые культуры представителей рода *Thermoanaerobacterium* с гидролитической активностью на микрокристаллической целлюлозе получены целевым выделением из компоста. Последовательность гена 16S рНК штамма 1250 на 99.9 % гомологична последовательности бактерии *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum*. А ближайшим родственником штамма 1255 со сходством последовательности гена 16S рНК 99.5 % является *Thermoanaerobacterium saccharolyticum*. Оба штамма являются строгими анаэробами и растут в широком диапазоне значений рН. Штамм 1250 растет в диапазоне рН от 4.5 до 9.0, а штамм 1255 от рН 4.0 до рН 9.0. Штаммы 1250 и 1255 растут на широком спектре гексоз (глюкоза, фруктоза, манноза и галактоза), пентоз (рибоза, арабиноза), а также используют ряд дисахаридов (сахароза, лактоза и мальтоза) и полисахаридов (крахмал, целлюлоза) при температуре от 30 °С до 70 °С.

Таким образом, ферменты новых представителей рода *Thermoanaerobacterium* с гидролитической активностью, растущих в широком диапазоне рН и температуры, могут вызывать значительный интерес для производства водорода, спиртов и получения термостабильных ферментов.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2021-1401.

**Оценка пробиотического потенциала у новых представителей *Lactobacillus*,
выделенных из редких сельскохозяйственных и диких животных**

А.П. Лукина, Л.О. Соколянская, Е.А. Никитина, Л.Б. Глухова, О.В. Карначук
Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск
электронная почта: anastasiya-lukina-93@mail.ru

Пробиотики играют важную роль в поддержании здоровья кишечника у человека и сельскохозяйственных животных. В течение многих десятилетий представители семейства *Lactobacillaceae* использовались в качестве эффективной терапии для лечения ряда патологических состояний у человека. Однако после введения пробиотиков существует риск транслокации, приводящей к сепсису и бактериемии, поэтому требуется большая осторожность при выборе вида *Lactobacillaceae*. Согласно ФАО и ВОЗ (2017 г.), чтобы классифицировать молочнокислые бактерии (МКБ) как пробиотики, необходимо провести видовую характеристику штамма, чтобы заявить о его функциональных характеристиках. Помимо функциональной характеристики штаммов МКБ важно уделять внимание наличию генов устойчивости к антибиотикам (ARG) у *Lactobacillus*. ARG-содержащие пробиотики, могут представлять опасность с точки зрения переноса устойчивости к антибиотикам в организм человека и животных. Источником *Lactobacillus*, свободных от ARG, могут являться животные, не имевшие контакта с антибиотиками в виде добавок к питанию или лекарственных препаратов, или молочнокислые продукты, полученные на основе молока таких животных.

Чистые культуры *Lactobacillaceae* были выделены из кишечной микробиоты верблюдов (*Camelus bactrianus*) и шубата (традиционное ферментированное верблюжье молоко), отобранных в Кош-Агачском районе Республики Алтай. Анализ последовательностей гена 16S рНК показал, что родственниками выделенных культур были представители: *Lacticaseibacillus paracasei*, *Lactisilactobacillus fermentum*, *Lactiplantibacillus pentosus*, *Lactococcus lactis*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Hafnia paralvei* со сходством последовательностей гена 16S рНК 98-99 %. Ряд отобранных культур является перспективными для дальнейшего применения в качестве пробиотиков. Отобранные культуры обладают полезными пробиотическими свойствами, включая устойчивость к низким рН и солям желчных кислот, а также способностью к агрегации клеток. Чистые культуры были чувствительны к тетрациклину, стрептомицину, ампициллину, гентамицину и канамицину. Так же полученные штаммы *Lactobacillaceae* были устойчивы к воздействию пепсина, трипсина и панкреатина.

Полученные штаммы являются перспективными для использования в пищевой промышленности и фармакологии, также в дальнейшем будут определены полные последовательности геномов полученных штаммов, что позволит подтвердить отсутствие у них генов устойчивости к антибиотикам (ARG).

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2021-1401.

Идентификация и физиолого-биохимическая характеристика фомоидных микромицетов, выявленных на растениях родов *Cirsium* и *Sonchus* в Приморском крае

Е.Г. Лукина, И.А. Казарцев, А.О. Берестецкий

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

электронная почта: elizaveta121999@mail.ru

Микроскопические грибы обладают способностью продуцировать биологически активные вторичные метаболиты, представляющие ценность для развития медицины и сельского хозяйства. В частности, различные фитопатогенные и эндофитные микромицеты являются продуцентами фитотоксинов, на основе которых могут быть разработаны препараты, применяемые для борьбы с сорной растительностью, называемые биорациональными гербицидами [1]. Именно поэтому поиск продуцентов фитотоксических метаболитов является важной задачей современной науки. Однако, не менее существенным является вопрос, связанный с выбором мест для проведения данных исследований.

Приморский край обладает благоприятными природными и климатическими условиями для развития различных грибов, в том числе фитопатогенных и эндофитных микромицетов. Кроме того, микобиота растений данного региона изучена достаточно бедно, и последние работы, посвященные исследованию микромицетов, проводились в конце первого десятилетия 21 века [2,3]. Таким образом, территория Приморского края может представлять интерес как для изучения биоразнообразия микроскопических грибов, так и для поиска новых продуцентов биологически активных метаболитов.

Цель данной работы состояла в поиске новых продуцентов биорациональных гербицидов среди микроскопических грибов, найденных на растениях *Cirsium* и *Sonchus* в Приморском крае. Из растений бодяка и осота было выделено пять изолятов фомоидных микромицетов. Их идентификацию проводили по морфолого-культуральным и молекулярно-генетическим признакам. Анализировали метаболитные профили экстрактов изолятов с помощью метода ВЭЖХ-МС-ДМД. Осуществляли оценку фитотоксической активности полученных экстрактов в отношении *Cirsium arvense* L., *Sonchus arvensis* L. и *Triticum aestivum* L.

В результате молекулярно-филогенетического анализа, выполненного на основании изучения последовательностей локуса ITS и участков генов *tub2*, *tef1-α* и *rpb2*, а также исследования культуральных и микроморфологических признаков показано, что все изученные изоляты потенциально могут представлять новые для науки виды из родов *Paraphoma*, *Didymella* и *Stagonosporopsis*.

Среди изолятов рода *Paraphoma* найден новый продуцент фитотоксина феосфериды А. В экстракте *Didymella* sp. обнаружены фитотоксические производные тетрамовых кислот – макроцидины. Среди остальных изолятов *Didymella* sp. и *Stagonosporopsis* spp. найдены новые продуценты десятичленных лактонов, пинолидоксины и гербарумина I. Полученные экстракты проявили фитотоксическую активность в отношении тест-растений.

Таким образом, на растениях бодяка и осота были найдены новые виды фомоидных микромицетов, а также перспективные продуценты фитотоксических метаболитов, потенциально являющихся прообразом для создания биорациональных гербицидов.

Ссылки:

1. Berestetskiy A.O. // Plants. 2021. V.12. P. 234.
2. Ганнибал Ф.Б. и др. // Новости систематики низших растений. 2010. Т. 44. С. 105–117.
3. Li Y. et al. // Fungi of Ussuri River Valley. Science Press Beijing. 2011.

**Информационная система биобанка – концепция, подсистемы,
некоторые аспекты применения**

В.В. Михайлов¹, М.П. Исаева¹, В.В. Куриленко¹, Н.Ю. Отставных¹, Е.П. Быстрицкая¹,
С.Н. Балдаев¹, В.Е. Чаусова¹, И.Е. Ильин², П.А. Лысюк², К.В. Гузев²

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

²Общество с ограниченной ответственностью «Бюротика», Владивосток

электронная почта: kvg@bureautics.com

Разработанная в ФГБУН «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН» информационная система «Биобанк КММ» обеспечивает информационную поддержку процессов адаптивного управления биоресурсной коллекцией морских микроорганизмов и исследований её объектов.

«Биобанк КММ» — это мультифункциональная современная информационная система специального делопроизводства (ИС). ИС построена по модульному принципу. Информационные модели автоматизированных рабочих мест (модулей) разработаны с учетом современного состояния предметных областей на принципах таксономически замкнутой в пределах предметной информатики метаклассификации.

Исследования объектов ведутся в стиле «формирование и описание услуг и работ, формирование заказа, выполнение заказа». ИС содержит развитые независимые каталоги услуг и исследований и обеспечивает расширенные операции управления ими. Для структурирования данных исследований использована парадигма «Услуги состоят из работ, работы состоят из заключений и показателей». Показатели любых работ (исследований) адаптивные, имеется богатый набор информационных инструментов для их тонкой настройки.

ИС состоит из подсистем: управления базами данных, информационного взаимодействия, отображения, ввода и редактирования данных, управления, почтовой, СМС, оцифровки бумажных документов, сопряжения с внешними ресурсами, статистической, административной, резервного копирования, архивной, экспорта/импорта данных, поисковой, ЭЦП, антивирусной, защиты клавиатурного ввода, проверки орфографии, восстановления сокращений, конструктора отчетов, «Корзина», Интернет-подсистемы, подготовки данных, «Блокчейн» и предметной подсистемы.

Научные данные объектов биобанка организованы и реализованы с помощью свойств и результатов исследований. Работа с данными объектов ведётся на основе стандартов предметных областей, эта функциональность обеспечивается сразу или настраивается. Например, данные (паспорт) объекта (штамма) можно организовать в соответствии с требованиями к их структуре и составу с помощью свойств объекта и с использованием справочников «Каталог свойств объекта», «Свойства объектов», «Каталог списочных свойств объекта», а модуль «Географический справочник» используется как для работы с Федеральной информационной адресной системой, так и с адресными классификаторами других стран.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075–15-2021-1052.

Ссылки:

1. ГОСТ Р ИСО 20387-2021 Биотехнология. Биобанкинг. Общие требования.
2. ISBER (Международное общество биологических и экологических репозитория) Передовые практики. Рекомендации для хранилищ 4-е издание.
3. MIRRI Information System (MIRRI-IS) MIRRI-IS dataset (Version 5).

**Биоресурсная коллекция «Морской биобанк» ННЦМБ ДВО РАН –
современный подход к сбору, хранению, изучению
и управлению морскими образцами**

Т.Ю. Орлова

*Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: torlova06@mail.ru*

Биоресурсная коллекция ЦКП «Морской биобанк» (MBRU) была создана в 2017 году на базе существующих уникальных биологических коллекций, находящихся в Национальном научном центре биологии моря ДВО РАН (ННЦМБ ДВО РАН) во Владивостоке. Морской биобанк предназначен для сбора, хранения, изучения, обмена и внедрения результатов по широкому спектру морских биологических образцов в соответствии с передовыми технологиями биобанкирования (<http://marbank.dvo.ru>). На сегодняшний день ЦКП «Морской биобанк» сочетает в себе возможности роботизированного криохранилища морского биоматериала (LiCONiC STC Compact ULT -80°C; THE BIOSAFE-420), передовых технологий анализа и обработки данных (TECAN Freedom EVO 150/8, TECAN Spark®, EVOS 5000) и средств контроля и доступа («BIOSAFE ®-Control В», FreezerPro и C+CRYO System). На сегодняшний день Биоресурсная коллекция Морской биобанк представлена широким спектром биологических образцов, а также проб морских осадков, в том числе глубоководных сборов, полученных с использованием телеуправляемого аппарата Comanche 18. Коллекция MBRU представлена оригинальными клонами и штаммами морских микроводорослей и цианобактерий, в том числе, вызывающих вредоносное цветение воды и продуцирующих фикотоксины. Также в Морском биобанке поддерживается коллекция морских генетических ресурсов и биоматериалов морских млекопитающих из дикой природы и Приморского океанариума – филиала ННЦМБ ДВО РАН. В докладе анализируются сложности, связанные с работой первого российского Морского биобанка, в том числе проблемы, которые могут стать препятствием для межведомственных и трансграничных исследований и сотрудничества, ограничивая доступ к образцам и данным. Обсуждаются перспективы развития Морского биобанка ННЦМБ ДВО РАН.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № FWFE-2023-0001.

**Развитие систематики актинобактерий рода *Rathayibacter*:
двенадцать новых видов из травянистых и древесных растений**

Ю.В. Оспенников¹, А.В. Демидов¹, Л.В. Дорофеева¹, И.П. Стародумова¹, С.В. Тарлачков¹,
Н.В. Присяжная¹, С.А. Субботин^{2,3}, Л.И. Евтушенко¹

¹ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», Пушкино

²Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва

³California Department of Food and Agriculture, Sacramento, California, USA

электронная почта: 664nod@zoho.com

Актинобактерии рода *Rathayibacter* известны науке более века, с момента обнаружения Эмерихом Ратайем в 1897 году бактериоза ежи сборной (*Dactylis glomerata* L.) и его возбудителя (описанного изначально как «*Aplanobacter rathayi*»). Род *Rathayibacter* был предложен для нескольких видов *Clavibacter*, имеющих менахинон МК-10, пептидогликан на основе диаминоасляной кислоты (L-изомер), рамнозу и маннозу в составе сахаров клеточной стенки (Zgurskaya et al., 1993). Известные виды *Rathayibacter* – фитопатогены и эндофиты травянистых растений, преимущественно злаковых. Для некоторых видов отмечена тесная ассоциация с фитопатогенными нематодами рода *Anguina*, являющимися переносчиками бактерий. Несмотря на более чем вековую историю, практическую значимость и широкое распространение, род *Rathayibacter* остаётся весьма слабо изученным, и на данный момент род включает всего 9 валидно описанных видов. Это обстоятельство во многом обусловлено высоким сходством видов рода по традиционным таксономическим характеристикам и генам 16S рНК (до 99.7%). В настоящей работе представлены результаты таксономического изучения новых штаммов бактерий рода *Rathayibacter*, изолированных из свежесобранных и гербарных образцов 10 видов различных травянистых (проломник Козо-Полянского, пижма обыкновенная, кермек, горчак ползучий, качим высокий, тонконог крупноцветковый, коротконожка двуколосковая, дантония калифорнийская, сныть и полынь) и 3 древесных растений (липа, конский каштан, яблоня), в том числе, инфицированных фитонематодами (*Anguinidae*, *Aphelenchoidae*) или с признаками поражения паразитическими членистоногими. Образцы растений собраны в период с 1992 по 2020 гг. на территории России (Московская, Белгородская и Волгоградская области), Узбекистана (пустыня Кызылкум) и США (штат Калифорния). Первичную идентификацию новых изолятов на уровне рода и выявление потенциально новых видов проводили с использованием методов МАЛДИ масс-спектрометрии и анализа генов 16S рНК. Последующее секвенирование и сравнительный анализ геномов изолятов показал, что выделенные бактерии являются представителями 12 новых видов. Уровни ДНК-ДНК гибридизации *in silico* (25,8–67,8%) и величины средней идентичности нуклеотидов (82,6–96,0%) между изолятами и типовыми штаммами ближайших видов были ниже или в пределах границ разделения видов (70% и 95–96%, соответственно). Интересно отметить, что штаммы одного вида бактерий обнаруживались в тканях разных растений, а в составе микробиоты одного и того же растения найдены представители нескольких (новых) видов. На основании полученных и ранее опубликованных данных предложены исправленные и дополненные описания рода *Rathayibacter* и входящих в него видов, включающие, в том числе, сведения о составе гликополимеров клеточной стенки (представители разных видов имеют разные по структуре тейхуроновые кислоты в сочетании с нейтральными рамнозосодержащими полимерами). Сформирована и передана в фонд ВКМ коллекция штаммов *Rathayibacter*, в их числе представители новых видов и ассоцианты древесных растений.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2021-1051.

**Активность микробной сульфатредукции
в пробах глубинных подземных горизонтов,
содержащих представителей семейства "Desulforudaceae"**

И.И. Русанов¹, В.В. Кадников², А.П. Лукина³, Е.Е. Захарова¹, О.В. Карначук³

¹Институт микробиологии им. С.Н.Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

²Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

³Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск
электронная почта: rusanov_igor@mail.ru

Микробная сульфатредукция является основным процессом, ответственным за образование сульфидов в природных и техногенных средах, содержащих сульфаты при отсутствии или низком содержании кислорода. В биогеохимических исследованиях давно и успешно используется радиоизотопный метод для определения интенсивности сульфатредукции в природных биотопах, таких как морские и пресноводные осадки, анаэробные зоны водоемов, заболоченные почвы и другие. Недавние оценки общей биомассы Земли показали, что глубокие недра содержат около 15% общей биомассы биосферы, которая в основном состоит из бактерий и архей. Микробное сообщество глубинной биосферы остается малоизученным из-за ограниченного доступа к подземным слоям и водоносным горизонтам. Скважины, пробуренные для разведки или добычи полезных ископаемых, часто предоставляют микробиологам возможность отбирать образцы подземных биотопов.

Скорость образования биогенного H₂S в водоносных горизонтах глубинной биосферы до сих пор остается малоизученной. До наших исследований определение интенсивности сульфатредукции с использованием радиоактивного сульфата в пробах воды наземной глубинной биосферы практически не проводили. Исключение составляют подводные гидротермы. Нами была проведена серия комплексных экспедиций с целью выяснения распределения и активности сульфатредуцирующих бактерий (СРБ) в воде различных подземных биотопов, путем секвенирования ампликона гена 16S рРНК в сочетании с измерениями скорости восстановления сульфата *in situ* и культивированием при различных температурах. Во многих из исследованных биотопов были обнаружены СРБ из семейства 'Desulforudaceae'.

В докладе будут представлены результаты по определению скорости сульфатредукции в десяти различных типах биотопов, ассоциированных как с термальными скважинами Западной Сибири и Бурятии, так и с водоносными слоями угольных пластов Кузбасса. Обе системы можно рассматривать в качестве местообитаний с низким или умеренным содержанием сульфатов, бескислородными восстановительными условиями, с температурным диапазоном от 10–15 °С до 55–70 °С. Наши исследования показали, что измеренные радиоизотопным методом скорости сульфатредукции во всех образцах составляли заметную или даже высокую величину и варьировали от 88.8 нг S_{восст} /л/сут до 41.4 мкг S_{восст} /л/сут.

В совокупности с молекулярными, микробиологическими и биогеохимическими методами радиоизотопное определение скорости сульфатредукции является действенным инструментом для изучения активности сульфидогенных прокариот в биотопах, ассоциированных с разными условиями подземной биосферы. Более того, в случае поиска и изучения сульфатредуцирующих микроорганизмов в определенном биотопе, радиоизотопное измерение интенсивности сульфатредукции является хорошим маркером перед началом длительного микробиологического культивирования или дорогостоящих молекулярно-биологических исследований.

Исследование поддержано грантом РФФ № 21-14-00114 (ОВК).

**Филогенетический анализ бактерий,
выделенных из донных осадков Чёрного моря**

Ю.В. Савичева, Л.А. Романенко

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: iu.savicheva0@yandex.ru

Микроорганизмы морских сред обитания активно участвуют в формировании и поддержании морских биогеоценозов и являются перспективными кандидатами для поиска новых продуцентов биологически активных соединений. Экосистема Черного моря представляет неизученную с точки зрения биотехнологического потенциала микроорганизмов среду, которой серьезный экологический ущерб наносит развитие сельского хозяйства, рост урбанизации и промышленности.

В работу были взяты 88 штаммов гетеротрофных бактерий, изолированных из образцов донных осадков Чёрного моря, хранящихся в необъявленном фонде КММ ТИБОХ ДВО РАН. Для установления таксономического положения изучаемых штаммов были получены последовательности гена 16S рРНК с использованием секвенирования по методу Сэнгера на генетическом анализаторе SeqStudio™ (Thermo Fisher Scientific, США). Для анализа нуклеотидных последовательностей использовалась программа MEGA X, первичную идентификацию штаммов проводили в базе данных NCBI с помощью алгоритма BLAST. Филогенетическое дерево построено методом присоединения соседей (Neighbor joining) с использованием (bootstrap analysis) бутстрепа (1000 реплик) в программе MEGA X.

Генотипирование исследуемых штаммов выявило представителей 30 родов, включая: *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Oceanibacillus*, *Paenibacillus*, *Peribacillus*, *Metabacillus*, *Cytobacillus*, *Priestia*, *Paenisporosarcina*, *Pseudoalkalibacillus*, *Souchella*; *Fredinandcohnia*, *Rossellomorea* (тип *Bacillota*); *Arenibacter*, *Lutibacter*, *Lutimonas*, *Sedimicola* (тип *Bacteroidota*); *Streptomyces*, *Nocardiosis*, *Kocuria* (тип *Actinomycetota*); *Pseudomonas*, *Microbulbifer*, *Marinobacter*, *Vibrio*, *Halovulum*, *Kiloniella*, *Erythrobacter*, *Parasphingorhabdus*, *Sulfitobacter*, *Antarctobacter* (тип *Pseudomonadota*). Бактерии, представляющие тип *Bacillota* (57%), были доминирующей группой, второй же по численности группой были бактерии типа *Pseudomonadota* (24%). На основании филогенетического анализа 24 штамма, предположительно, могут быть представителями новых таксонов.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о таксономическом разнообразии бактерий, обитающих в донных осадках Черного моря. Дальнейшее изучение биоразнообразия этого региона представляет высокий интерес и может способствовать изучению новых бактериальных таксонов.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075–15-2021-1052.

**Анализ краткосрочной и долгосрочной стабильности
микробиоты кишечника человека здоровых добровольцев
методом полногеномного секвенирования**

А.М. Сенина, М.И. Маркелова, Д.Р. Хуснутдинова, М.Н. Синягина, Е.А. Булыгина,
О.А. Данилова, Т.В. Григорьева
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань
электронная почта: Anastasiahm@list.ru

В настоящее время бактериальный состав микробиоты кишечника человека ассоциирован с различными патологическими состояниями организма-хозяина, включая воспалительные заболевания кишечника, сахарный диабет 2 типа, ожирение, колоректальный рак, а также аллергию и некоторые заболевания нервной системы [1]. Ключом к пониманию роли нарушений микробиоты при патологических состояниях организма-хозяина является ответ на вопрос, насколько вариабельно бактериальное сообщество кишечника человека, и могут ли внутрииндивидуальные микробные различия быть связаны с изменением состояния здоровья организма-хозяина. Также понимание вариабельности микробиоты имеет решающее значение для ее диагностического и прогностического применения в области общественного здравоохранения.

В данном исследовании представлены результаты метагеномного анализа образцов кала 10 условно-здоровых добровольцев, отобранных в трех временных точках: 1-ый день, 14-ый день и 365-ый день. Тотальная ДНК из образцов выделялась с использованием набора MP FastDNA Spin Kit for Feces (MP Biomedicals, США). Подготовка библиотек проводилась по протоколу NEBNext ultra II для платформы Illumina (NEB, США). Секвенирование осуществлялось на анализаторе Illumina HiSeq 2500 (Illumina, США). Полученные риды были картированы на референсный геном человека hg19, с помощью программы Bowtie2. Риды, которые не были картированы, были подвергнуты таксономическому профилированию с помощью программы MetaPhlan 4.

В микробиоте всех участников исследования доля филы *Firmicutes* варьировала от 39,6% до 88%, филы *Bacteroidetes* - от 7% до 57.6%, филы *Actinobacteria* - с 0.1 до 27%, филы *Proteobacteria* - от 0.4 до 7%. Средняя внутрииндивидуальная вариабельность доли филы *Firmicutes* составляла $13.4 \pm 1.7\%$, филы *Bacteroidetes* - $13 \pm 12.5\%$, филы *Actinobacteria* - $2.7 \pm 3.4\%$, филы *Proteobacteria* - $1.2 \pm 1.3\%$. Для определения сходства между разными образцами был использован критерий Брея-Кёртиса, с помощью которого выявлено, что микробиота кишечника была менее вариабельна у отдельных участников исследования в трех сравниваемых временных точках по сравнению с другими участниками. Согласно анализу главных компонент, 30% участников исследования демонстрировали более выраженную вариабельность состава бактериального сообщества. Таким образом, была выявлена временная стабильность микробиоты в течение года у участников исследования и выраженная вариабельность микробиоты между участниками.

Работа выполнена на базе Междисциплинарного центра коллективного пользования КФУ в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030) и финансируется за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету на выполнение государственного задания в сфере научной деятельности (проект № FZSM-2023-0013).

Ссылки:

1. Chen Y. et al. // Front. Cell. Infect. Microbiol. 2021. V. 11. P. 86.

Фаговая платформа вирусных вакцин

С.П.Синеокий

*Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов НИЦ «Курчатовский институт»,
Москва*

электронная почта: sps0947@yandex.ru

Бактериофаги играют важную роль в генетическом обмене между микроорганизмами и в их эволюции. Традиционно, они широко используются в качестве удобных модельных объектов молекулярными генетиками. Результаты изучения бактериофагов лежат в основе современных представлений о регуляции экспрессии генов, лизогении, рекомбинации ДНК, самосборки белков. Бактериофаги широко использовались и используются для разработки методологии генетической инженерии. В последние годы бактериофаги привлекают внимание исследователей в качестве перспективной платформы для разработки вакцин.

Перспективы развития работ по созданию новых ветеринарных вакцин в значительной степени связаны с генно-инженерным конструированием иммуногенных вирусоподобных частиц нанометрового размера (VLP), содержащих субъединичные вирусные антигены или РНК таких антигенов. VLP могут имитировать вирусную инфекцию и индуцировать устойчивые иммунные ответы хозяина. VLP с экспонированными антигенами могут имитировать молекулярные паттерны, связанные с антигенами патогенов, стимулируя как врожденную так и адаптивную иммунную систему хозяина, вызывая как гуморальный так и клеточный иммунные ответы.

Разработка платформ создания VLP, которые могли бы включать любой субъединичный антиген или несколько антигенов значительно упростила бы разработку субъединичных вакцин против многих патогенов. Их создание значительно упростило бы процесс лицензирования вакцин с сделала бы их более доступными в глобальном масштабе.

Бактериофаги являются очень многообещающими кандидатами для разработки универсальных платформ создания VLP вакцин из-за хорошей изученности, размеров, сходных с размерами вирусов животных, возможностями использования как для экспонирования субъединичных белковых антигенов патогенов, так и разработки РНК-овых вакцин, потенциальными возможностями значительно упростить технологии масштабного производства и снизить себестоимость получения ветеринарных вакцин. Ряд ветеринарных вакцин, созданных на их основе находятся на стадии испытаний.

**Разнообразие штаммов *Escherichia coli* при болезни Крона
под воздействием биологической терапии. Кейс репорт**

М.Н. Синягина¹, А.В. Лайков¹, М.И. Маркелова¹, Е.А. Бульгина¹, Н.А. Данилова²,
С.Р. Абдулхаков¹, Т.В. Григорьева¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

²ГАУЗ ГKB №7, Казань

электронная почта: marias25@mail.ru

Болезнь Крона (БК) является многофакторным воспалительным заболеванием кишечника человека, которое прогрессирует со временем. При этом одним из важнейших факторов патогенеза является изменение микробиоты кишечника. В настоящее время наиболее распространенным способом характеристики сообщества является анализ представленности фил, семейств, родов и видов бактерий, однако изменения состава микробиоты кишечника пациентов могут быть обусловлены различиями штаммов. Поскольку *Escherichia coli* является нормальным компонентом микрофлоры, представленность которого значительно повышается при воспалительных заболеваниях кишечника [1], мы культивировали данные бактерии из фекалий 14 пациентов с БК [2]. Здесь мы сообщаем о клиническом случае пациента с БК (мужчина, 53 года), у которого воспалительный процесс обнаружен в толстой кишке (колит). Кишечник пациента был колонизирован 5 штаммами *E. coli*, три из которых продуцировали сероводород (H₂S). Образование H₂S не является типичной характеристикой бактерий вида *E. coli*. Бактерии толстой кишки производят H₂S при воздействии антибиотиков и при окислительном стрессе. Высокие концентрации H₂S приводят к повреждению слизистой оболочки толстой кишки и увеличению ее проницаемости. Таким образом, выделенные H₂S-продуцирующие штаммы *E. coli*, вероятно, подвергаются окислительному стрессу в кишечнике пациента, а их защитные механизмы могут способствовать воспалению.

В данном исследовании для характеристики изолированных фекальных штаммов было выполнено полногеномное секвенирование с использованием платформы Illumina NextSeq 500. Геномные сборки *E. coli*, продуцирующих H₂S, депонированы в базе данных NCBI (GCA_008040715.1, GCA_008040625.1, GCA_008040635.1), и штаммы доступны в ВКМ (B-3720, B-3721, B-3722). Геномный анализ бактерий пациента на момент начала исследования показал, что доминирующий штамм принадлежит к филогруппе D (сиквенс-тип ST349), а остальные четыре – к филогруппе A (сиквенс-типы ST871, ST48, ST536, ST685). Серотипы штаммов: O166:H15, O4:H45, O~:H20, O154:H9, O~:H30. Анализ генетического разнообразия штаммов *E. coli* у данного пациента через 5 лет терапии выявил смену бактериальных штаммов. Всего были выделены 3 штамма, ни один из которых не продуцировал H₂S. Несмотря на то, что распределение штаммов по филогруппам не изменилось, они относились к другим сиквенс-типам – ST69, ST4774 и ST5295. Кроме того, штаммы обладали другими серотипами – O128ac:H12, O71:H12, O15:H18. Таким образом, изменение бактериального сообщества может быть связано со снижением воспаления и окислительного стресса в кишечнике под действием терапии.

Работа выполнена в рамках программы стратегического академического лидерства (ПРИОРИТЕТ-2030) и финансируется за счет субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету на выполнение государственного задания в сфере научной деятельности (№ FZSM-2023-0013).

Ссылки:

1. Danilova et al. // *Terapevticheskii arkhiv*. 2019. V. 91, N. 4. P.13-20.
2. Siniagina et al. // *Microorganisms*. 2021. V. 9, N. 6. P.1299.

Новые виды семейства *Geodermatophilaceae*, содержащие гены микробных родопсинов

С.В. Тарлачков¹, И.П. Стародумова¹, О.В. Буева¹, Л.В. Лысак², С.А. Субботин³,
Л.И. Евтушенко¹

¹Всероссийская коллекция микроорганизмов (ВКМ), Институт биохимии и физиологии
микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

³Институт проблем экологии и эволюции им А.Н. Северцова РАН, Москва
электронная почта: sergey@tarlachkov.ru

Семейство *Geodermatophilaceae* (класс *Actinomycetes*) в настоящее время включает 6 валидно описанных родов: *Blastococcus*, *Geodermatophilus*, *Goekera*, *Klenkia*, *Modestobacter* и *Trujillonella*. Представители семейства – типичные обитатели аридных олиготрофных экосистем, характеризующихся высоким уровнем солнечной радиации и низким содержанием доступной воды и питательных веществ. Зачастую обнаруживаются среди первопоселенцев каменистых поверхностей и играют ключевую роль в формировании структуры микробных сообществ в пустынях. Известны своей мультистрессовой устойчивостью (к высушиванию, перепадам температур, окислительному стрессу, ультрафиолету, ионизирующему излучению и т.д.), обеспечивающей их выживание в высоких слоях атмосферы при передвижении на тысячи километров во время пыльных бурь.

В настоящем сообщении представлены результаты изучения 11 штаммов семейства *Geodermatophilaceae*, выделенных в 1991–1993 гг. из растений и соляных корок пустынь Кызылкум и Каракум и сохраняемых во Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ). Анализ МАЛДИ масс-спектров, генов 16S рРНК и последовательностей геномов показал, что штаммы относятся к нескольким новым видам родов *Modestobacter* и *Blastococcus*. Величины dDDH и ANI между изученными штаммами и валидно описанными видами были ниже минимальных значений разграничения видов (70% и 95%, соответственно). Большинство исследованных организмов оказались наиболее близкими к виду *Modestobacter caceresii*, обитателю пустыни Атакама – древнейшей и самой засушливой пустыни на планете. Ранее у представителей семейства авторами сообщения были описаны гены микробных родопсинов – светочувствительных мембранных белков с ретиналем в качестве хромофора. Микробные родопсины, как правило, выполняют фотоэнергетическую функцию, но могут также выполнять и функцию фоторецепции. На основе сравнительного анализа белковые последовательности были разделены на 4 группы: DTE-группа (родопсины, предположительно выполняющие функции протонных насосов), NDQ-группа (предположительно натриевые насосы), NTQ-группа (предположительно хлорные насосы) и группа гелиородопсинов (HeR) с неустановленной функцией. Филогенетический анализ и наличие замены высококонсервативного триптофана на фенилаланин в положении 182 позволили выделить две подгруппы (DTEW и DTEF) в составе DTE-группы родопсинов. У изученных в настоящей работе штаммов выявлены родопсины, относящиеся к группам DTE, NDQ и HeR. Наиболее распространенными оказались NDQ-родопсины и гелиородопсины, которые в большинстве случаев встречались совместно. У трех штаммов обнаружены все три типа выявленных белков (DTE, NDQ и HeR). Дальнейшее изучение бактерий семейства *Geodermatophilaceae* позволит расширить представления о разнообразии, функциях, биологической и экологической роли родопсинов, и в частности, гелиородопсинов, а также выявить гены с уникальными свойствами, перспективные для использования в оптогенетике.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2021-1051.

Воздействие различных подвидов бактерий *Bacillus thuringiensis* на физиологические и биохимические показатели колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata*

Д.С. Терещенко, Е.В. Гризанова, И.М. Дубовский
Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск
электронная почта: tereshenko-darya@mail.ru

На сегодняшний день энтомопатогенные бактерии, в частности бактерии *Bacillus thuringiensis*, представляют огромный интерес как агенты биологической защиты растений и являются основой биологических препаратов. Они способны продуцировать целый ряд соединений, которые отвечают за инфекционный процесс у насекомых. К видоспецифичным факторам вирулентности данных бактерий относят Сгу-белки, определяющие токсичность для насекомых. Однако, в результате применения одних и тех же биопрепаратов на протяжении длительного времени, может происходить снижение вирулентности бактерий, а также формирование устойчивости насекомых.

Таким образом, поиск и сравнение высоковирулентных штаммов и подвидов бактерий *Bacillus thuringiensis*, а также изучение механизмов устойчивости насекомых является актуальной задачей в настоящее время.

Колорадский жук (*Leptinotarsa decemlineata*) принадлежит отряду жесткокрылых (*Coleoptera*) насекомых и является одним из самых распространенных и опасных вредителей сельскохозяйственных культур семейства Solanaceae, который уже сформировал устойчивость к широкому спектру инсектицидов. Как известно, насекомые обладают различными защитными реакциями при проникновении патогенных микроорганизмов. Физические (кутикула покровов насекомых, перитрофическая мембрана, кишечная микробиота) и химические (протеазы, рН кишечника, антимикробные белки, иммунная система) барьеры препятствуют проникновению чужеродных организмов и их развитию.

В данном исследовании проведен поиск и сравнение вирулентности различных штаммов и подвидов бактерий *Bacillus thuringiensis* по отношению к личинкам колорадского жука. Кроме того, проведено сравнение иммунного ответа, антиоксидантной и детоксицирующей систем колорадского жука при одинаковом уровне гибели (ЛК 30) при заражении разными подвидами и штаммами бактерий *B. thuringiensis*. Показано разнообразие бактерий *Bacillus thuringiensis*, зарегистрированы различия в составе Сгу-токсинов у изучаемых подвидов бактерий *Bacillus thuringiensis*, отмечены различия в уровне вирулентности по отношению к колорадскому жуку. Отмечено, что иммунный ответ и показатели антиоксидантной и детоксицирующей систем колорадского жука также были различными при заражении разными подвидами и штаммами бактерий.

Исследование поддержано грантами РФФ № 22-16-20031 и Правительства Новосибирской области № р-4.

Национальный каталог промышленных микроорганизмов. Принципы и критерии формирования

К.Б. Тимирбаев

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

электронная почта: timirbaev_kb@nrcki.ru

Советом по науке и образованию 8 февраля 2023 г. Правительству поручено (п.1 в)-2) [1] обеспечить создание, функционирование и финансирование национального биоресурсного центра (НБРЦ) промышленных микроорганизмов на базе Национального исследовательского центра «Курчатовский институт». 30 марта 2023 года в Госдуму внесен на рассмотрение законопроект «О биоресурсных центрах и биологических (биоресурсных) коллекциях» [2]. Законодательные акты формируют нормативную базу для функционирования Национальных биоресурсных центров, сети биоресурсных центров и существующих коллекций.

Разрабатываются критерии для включения в национальный каталог особо ценных генетических ресурсов микроорганизмов. Принципы формирования национального каталога и критерии включения образцов в национальный каталог определяют роль и участие организаций – держателей коллекций в формируемой сети, при этом каждая организация использует собственные критерии при формировании и пополнении коллекций. Наиболее важно внести следующие генетические ресурсы в национальный каталог: штаммы, депонированные в рамках процедур национального или международного патентного депонирования, референтные штаммы (стандарты), используемые в контрольных лабораториях и описанных контрольных методиках, типовые штаммы, государственные стандартные образцы, штаммы и линии (культуры клеток), требующиеся для обеспечения работ по приоритетным направлениям биотехнологии в образовании и промышленности, в том числе используемые в современной методологии генетической инженерии, секвенированные и хорошо изученные штаммы, иные генетические ресурсы, важные для обеспечения безопасности технологической независимости (синтетические генетические конструкции, плазмиды и т.д.). На основании критериев, определяемых Межведомственной комиссией, в национальный каталог целесообразно включать иные образцы генетических ресурсов, такие, как штаммы, полученные в результате научных исследований в рамках государственных исследовательских программ, штаммы, используемые в значимых научных исследованиях (опубликованных в рейтинговых научных журналах), штаммы, используемые или использованные в биотехнологических производствах, штаммы, характеризующие биологическое разнообразие.

Для эффективного использования генетических ресурсов НБРЦ совместно с Межведомственной комиссией должны быть устранены пробелы в нормативном регулировании использования генетических ресурсов. Определены основные направления работы в области нормативного регулирования: стандартизация штаммов, разработка требований к формированию, сохранению и обеспечению регулируемой доступности генетических ресурсов, разработка правил и принципов безопасного использования микроорганизмов в промышленности, разработка требований по депонированию штаммов, полученных по результатам научных исследований за счет бюджетных средств. В качестве нормативной основы безопасного оборота генетических ресурсов и для взаимодействия организаций – держателей коллекций НБРЦ разрабатывает и внедряет систему качества (сертификации) к которой присоединяются биоресурсные центры и исследовательские коллекции.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Тематического плана НИЦ «Курчатовский институт»

Ссылки:

1. Перечень поручений по итогам заседания Совета по науке и образованию <http://www.kremlin.ru/catalog/keywords/39/events/70973>.
2. Законопроект № 325647-8 «О биоресурсных центрах и биологических (биоресурсных) коллекциях» <https://sozd.duma.gov.ru/bill/325647-8>.

Колонизация растений картофеля грибами *Metarhizium* и *Beauveria* в условиях Сибири

М.В. Тюрин¹, М.Р. Кабилов², Н.С. Смирнова³, О.Г. Томилова¹, О.Н. Ярославцева¹,
Т.Ю. Аликина², В.В. Глупов¹, В.Ю. Крюков¹

¹Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

³Институт почвоведения и агрохимии СО РАН, Новосибирск

электронная почта: maktolt@mail.ru

Грибы *Beauveria* и *Metarhizium* являются факультативными эндофитами растений, оказывающими ростостимулирующее, иммуномодулирующее и антимикробное действие. Существует ряд работ, где показана колонизация растений при искусственной инокуляции растений грибами или их внесении в почву [1,2]. В частности, нами установлено, что на картофеле, предпосадочная обработка клубней этими грибами снижает уровень ризоктониоза и повышает качество и количество урожая [3]. Однако, мало что известно об уровне колонизации растений этими грибами в естественных условиях, а также после искусственного внесения грибов в агросистемы.

Мы оценили эндофитную заселенность картофеля энтомопатогенными грибами при их естественной нагрузке в почве (10^2 - 10^4 КОЕ/г) [4]. Для оценки были использованы как микробиологический анализ почв и органов растений, так и метагеномный анализ корней и листьев картофеля в картофельных агросистемах Новосибирской области. Грибы с высокой частотой выделялись из нестерилизованных корней (до 53% метаризиум-позитивных растений). Однако, они редко выделялись из внутренних тканей корней, стеблей и листьев (3%). Как в ризосферной почве, так и во внутренних тканях преобладали виды *Metarhizium*. Секвенирование 37 культур по региону гена фактора элонгации показало присутствие двух криптических видов *M. robertsii* и *M. brunneum*, с преобладанием первого. Метагеномный анализ поверхностно стерилизованных корней и листьев картофеля выявил 338 OTUs, относящихся преимущественно к Ascomycota из порядков Pleosporales, Capnodiales, Nurocreales, а также Pezizales. Сообщества грибов в растениях картофеля были представлены преимущественно фитопатогенами и некоторыми сапротрофами. Обилие *Metrhizium* было весьма низким <0.3%.

На следующем этапе нами проведен анализ микробных сообществ ризосферы и ризопланы картофеля после инокуляции клубней *M. robertsii*. Показано, что грибы активно выделялись из зоны ризосферы (80% случаев), а высокая концентрация спорангий в зоне ризосферы сохранялась до 22 суток. При этом доля гриба постепенно снижалась в течение 37 суток после обработки. Методом метагеномного секвенирования показано слабое влияние *M. robertsii* на сообщества бактерий в зоне ризосферы.

Таким образом, при естественной нагрузке энтомопатогенных грибов в почвах *Metrhizium* способен заселять ризосферу картофеля, однако проникновение во внутренние ткани картофеля происходит лишь спорадически. При этом обработка посадочных клубней конидиями *M. robertsii* приводит к устойчивому заселению ризосферы грибом, что, по всей видимости, и обуславливает повышение качества и количества урожая картофеля. Мы располагаем штаммами *Metarhizium*, способными эффективно колонизировать растения и перспективными для производства препаратов для повышения здоровья растений картофеля.

Исследование поддержано грантом РФФ № 19-14-00138-П.

Ссылки:

1 Vega F. // Mycologia. 2018. V. 110, N. 1. P. 4–30.

2 Bamsile B.S. et al. // Microbiol. Res. 2018. V. 217. P. 34–50.

3 Tyurin M. et al. // Microorganisms. 2021. V. 9, N. 7. P 1373.

4 Tomilova O.G. et al. // PeerJ. 2020.V. 8:e9895.

**Потенциал продукции токсических метаболитов штаммами *Ligilactobacillus salivarius*,
выделенными от пациентов с болезнью Крона**

Д.Р. Хуснутдинова¹, М.И. Маркелова¹, М.Н. Синягина¹, А.М. Сенина¹, Е.А. Булыгина¹,
С.Р. Абдулхаков^{1,2}, Т.В. Григорьева¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

²Казанский государственный медицинский университет, Казань

электронная почта: dilyahusn@gmail.com

Ligilactobacillus salivarius – важный представитель молочнокислых бактерий, широко распространен в ферментированных пищевых продуктах, желудочно-кишечном тракте животных и человека. Исследования микробиоты кишечника при болезни Крона (БК) выявили ассоциации острой фазы с увеличением представленности лактобацилл, в частности *L. salivarius* [1]. Для кишечника пациентов с БК характерны повышенные уровни биогенных аминов, в частности путресцина и кадаверина [2], что указывает на возможное неблагоприятное воздействие их в патогенезе БК. Биогенные амины, к которым относятся тирамин, гистамин, путресцин, спермидин и кадаверин, представляют собой азотсодержащие соединения, образующиеся при декарбоксилировании аминокислот бактериями, в частности лактобациллами [3]. В связи с этим, целью данной работы было оценить генетический потенциал *L. salivarius*, выделенных от пациентов с БК, в отношении продукции биогенных аминов.

Штаммы *L. salivarius* были выделены из образцов фекалий от 2 здоровых добровольцев в двух временных точках с разницей в 14 дней и от 3 пациентов с БК в активной фазе (Казань, Татарстан) на среде MRS (BD, США). Идентификация штаммов была проведена методом масс-спектрометрии MALDI-TOF (система MALDI Biotyper, Bruker Daltonik, Германия). Выделение и очистку геномной ДНК проводили с использованием набора ZymoBIOMICS DNA Miniprep Kit (Zymo Research, США). Полногеномное секвенирование проводили на платформе Illumina MiSeq (Illumina, США). Сборку геномов *de novo* осуществляли с помощью алгоритма SPAdes v3.11.1, аннотацию выполняли с помощью Prokka v1.12. В результате из микробиоты кишечника пациентов с БК было выделено и идентифицировано как *L. salivarius* – 3 штамма, из микробиоты кишечника здоровых добровольцев – 4 штамма. Поиск генов, участвующих в продукции токсических метаболитов, выявил наличие генов орнитин декарбоксилаз (*odcI*), участвующих в биосинтезе путресцина, во всех исследуемых штаммах лактобацилл. Однако, только в геномах *L. salivarius* от пациентов с БК были обнаружены гены агматин дезаминазы (*aguA*) дополнительного пути биосинтеза путресцина. Таким образом, найденные особенности штаммов *L. salivarius*, выделенных от пациентов с БК, могут вносить вклад в патогенез заболевания. В связи с этим необходимы дальнейшие исследования выделенных штаммов в экспериментах *in vitro*, для количественной оценки синтеза биогенных аминов.

Работа выполнена на базе Междисциплинарного центра коллективного пользования КФУ в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030) и финансируется за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету на выполнение государственного задания в сфере научной деятельности (проект № FZSM-2023-0013).

Ссылки:

1. Ghosh T. S. et al // Gut microbes. 2020. V. 12, N. 1. P. 1822729.
2. Santoru M. L. et al // Scientific reports. 2017. V. 7. N. 1. P. 9523.
3. Evanovich E. et al // International journal of genomics. 2019. P. 2019.

**Криобанк сельскохозяйственных микроорганизмов
как хранилище природных ресурсов и источник штаммов
с инновационными свойствами**

В.Е. Цыганов, В.И.Сафронова

*Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии,
Санкт-Петербург*

электронная почта: vetsyganov@arriam.ru

Коллекция ВКСМ является одной из старейших и крупнейших коллекций России. Она насчитывает более 10000 штаммов, многие из которых используются для производства биопрепаратов сельскохозяйственного назначения, которые используются в 12 Российских регионах на площади порядка 2 млн. гектарных порций ежегодно. Основная цель коллекции ВКСМ – накопление и изучение генетических ресурсов сельскохозяйственных микроорганизмов РФ путем создания новейшего научно-исследовательского комплекса с сетевым принципом организации, включающего роботизированное криохранилище, новейшие геномные технологии, а также единую компьютерную базу данных. Коллекция поддерживает штаммы, принадлежащие 14 институтам ОСХН РАН, депонирует порядка 300 штаммов ежегодно и выполняет заявки как научно-исследовательских, так и коммерческих организаций на выдачу штаммов. Фонд ВКСМ постоянно пополняется за счет активной экспедиционной деятельности. В коллекции используются современные методы идентификации и генетической паспортизации микроорганизмов (мультисубстратный анализ, AFLP-фингерпринтинг, секвенирование генов и полногеномных последовательностей). На основе анализа геномов проводится скрининг штаммов на наличие генов, ответственных за проявление практически-ценных свойств.

Для организации криобанка коллекция использует роботизированную станцию криохранилища биологических образцов, при создании которой использовались новейшие разработки в области робототехники, компьютерных и криогенных технологий. Принципиальные преимущества хранилища заключаются в долгосрочной и максимально качественной консервации микробиологического материала за счет стабильно низкой температуры хранения, а также в обеспечении авторизованного доступа к коммерческим штаммам с помощью компьютерных ключей. Для широкого круга пользователей организована единая интернет-база данных генетических ресурсов сельскохозяйственных микроорганизмов РФ, работающая «в реальном времени».

Таким образом, коллекция ВКСМ обладает новейшей приборной базой для идентификации, генетической паспортизации и гарантированного сохранения уникальной коллекции генетических ресурсов сельскохозяйственных микроорганизмов.

Исследование поддержано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2021-1055.

**Молекулярно-генетическая идентификация грибов рода *Trichoderma* Pers.,
изолированных с различных субстратов из лесных фитоценозов**

В.Н. Шевко, А.В. Константинов, И.А. Хархасова, С.В. Пантелеев
ГНУ «Институт леса НАН Беларуси», Гомель, Беларусь
электронная почта: verona.shevko@mail.ru

Представители рода *Trichoderma* Pers. (*Ascomycetes*, *Hypocreales*) являются космополитами и массово встречаются в разнообразных естественных субстратах, в частности, в почве или гниющей древесине. Многие триходермы имеют важное экологическое и экономическое значение, как деструкторы отходов растениеводства и агенты биологического контроля фитопатогенов [1]. Видовая молекулярно-генетическая идентификация *Trichoderma* spp. в настоящее время проводится на основании использования набора из трех ДНК-баркодов: ITS, *tef1* и *rpb2* [2].

Цель исследований заключалась в первичной оценке разнообразия представителей рода *Trichoderma*, выделяемых с различных естественных субстратов, отобранных в сосновых насаждениях.

Материал для исследований (фрагменты корней сеянцев сосны обыкновенной, усыхающая хвоя средневозрастных деревьев, плодовые тела строчка и трутовиков) собирали в сосняках в весенний период на территории Корневской экспериментальной лесной базы Института леса НАН Беларуси. Чистые культуры получали на плотных питательных средах: сусло-агар (4-10% сусла), картофеле-глюкозный агар, среды Чапека, Сабуро, а также минеральные среды по прописям MS и WPM. Культивирование проводили в термостате при температуре 24°C в течение 3-7 суток с последующим двухкратным пересевом на свежие среды аналогичного состава.

Выделение препаратов тотальной ДНК для постановки ПЦР проводили модифицированным СТАВ-методом. В результате амплификации маркерного региона рДНК (ITS1) с праймером ITS1F/ITS2 и секвенирования ПЦР-продуктов по Сэнгеру (на генетическом анализаторе 3500 Applied Biosystems) идентифицировали культуры в международной базе данных NCBI (США).

Генетический анализ перевиваемых чистых культур позволил определить их принадлежность к 11 различным видам рода *Trichoderma* Pers.: *Trichoderma virens* (J.H. Miller, Giddens & A.A. Foster) Arx, 1987; *Trichoderma crassum* Bissett, 1992; *Trichoderma hamatum* (Bonord.) Bainier 1906; *Trichoderma koningiopsis* Samuels, C. Suárez & H.C. Evans, 2006; *Trichoderma pubescens* Bissett, 1992; *Trichoderma harzianum* Rifai, 1969; *Trichoderma scalesiae* Samuels & H.C. Evans, 2006; *Trichoderma viridescens* (A.S. Horn & H.S. Williamson) Jaklitsch & Samuels, 2006; *Trichoderma atroviride* Bidr. Känn. Finl. Nat. Folk 51: 363. 1892; *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckf. & Nirenberg, 1999; *Trichoderma sulphureum* (Schwein.) Jaklitsch & Voglmayr, 2014.

Таким образом, показано разнообразие видов рода *Trichoderma* в лесных экосистемах на различных субстратах. Относительно быстрое получение чистых культур и их молекулярно-генетическая идентификация дают возможность создания коллекций микроорганизмов для скрининга изолятов со стабильными признаками, а также последующей селекции и использования в качестве компонентов микробиологических препаратов.

Ссылки:

1. Stoppacher N. et al. // J. Microbiol. Meth. 2010. V. 81, N. 2. P. 187-193.
2. Carlson A. et al. // Mycologia. 2014. V. 106, N. 4. P. 735-745.

Идентификация морских бактерий, выделенных из донных осадков Охотского моря, на основе генотипирования по 16S рРНК

С.Е. Шевцова^{1,2}, В.И. Еремеев², Ю.В. Савичева², Л.А. Романенко²

¹Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

²Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

электронная почта: sofaschevtcova@yandex.ru

Обнаружение новых видов морских продуцентов биологически активных веществ является важной частью изучения акваторий. Для нахождения неизвестных ранее микроорганизмов целесообразным является анализ уникальных природных сообществ, сформировавшихся под влиянием необычных сочетаний внешних факторов среды. По этой причине, поиск и исследование таких нетипичных биоценозов становится одной из ключевых задач морской биологии.

Акватория Охотского моря, залив Академии, является обширным биоценозом, подходящим для поиска уникальных микроорганизмов. В 2016 – 2020 годах две океанологические экспедиции ТОИ ДВО РАН обнаружили в водах залива циклические изменения концентрации биогенных элементов [1]. Кроме того, формирование здесь благоприятных условий для возникновения видового разнообразия обуславливают высокие приливы, приводящие к постоянному перемешиванию донных осадков, а также сезонные миграции морских животных. С целью изучения биоразнообразия культивируемых бактерий, были исследованы 25 штаммов аксеничных культур, выделенных из донных осадков залива Академии. Для их идентификации была выделена геномная ДНК, амплифицированы и секвенированы последовательности гена 16S рРНК с использованием секвенирования по методу Сэнгера.

На основе филогенетического анализа гена 16S рРНК было обнаружено, что исследуемые штаммы принадлежат к 6 классам бактерий, а именно: *Bacilli* (5), *Flavobacteriia* (3), *Alphaproteobacteria* (9), *Actinomycetes* (4) и *Gammaproteobacteria* (4). В классе *Bacilli* выделенные штаммы относились к 3 родам из семейств *Bacillaceae*, *Paenibacillaceae* и *Staphylococcaceae*. Класс *Flavobacteriia* представлен 2 родами из семейства *Flavobacteriaceae*. В классе *Alphaproteobacteria* были обнаружены штаммы из 4 родов семейства *Roseobacteraceae*. Среди *Gammaproteobacteria* выделены 4 рода из 4 семейств. Наибольшее количество штаммов (36%) принадлежало к классу *Alphaproteobacteria*, семейству *Roseobacteraceae*. Обнаружено 8 штаммов, филогенетическое положение которых позволяет предположить их принадлежность к новым видам (6) и родам (2). На основе филогенетического анализа и степени сходства с наиболее близкими видами, предложено провести полногеномное секвенирование штаммов OS52 (97,2% идентичности с *Pseudophaeobacter flagellatus* и 97,0% с *Seohaecicola saemankumensis*, семейство *Roseobacteraceae*) и OS93 (97,8% для *Microbacterium diaminobutyricum*) для уточнения таксономического положения.

Таким образом, основываясь на результатах 16S rRNA генотипирования бактериальных культур, донные осадки залива Академии представляют перспективный объект для дальнейшего изучения данного биоценоза, открытия новых таксонов и поиска организмов-источников биологически активных веществ.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075–15-2021-1052.

Ссылки:

1. Тищенко П.Я. и др. // Океанология. 2022. Т. 62, N 1. С. 98–111.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ: ОТ ГЕНА К БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИ ЦЕННОМУ ПРОДУЦЕНТУ

Экспрессия специфичных генов биосинтеза нафтохиноидных пигментов морских ежей *Scaphechinus mirabilis* и *Strongylocentrotus intermedius*

Н.В. Агеенко¹, К.В. Киселев², Н.А. Одинцова¹

¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,
Владивосток,

²ФНЦ биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: natkuprina@mail.ru

Пигментные клетки морских ежей дифференцируются на стадии мезенхимной бластулы и в конце гастрюляции начинают формировать пигментные гранулы, содержащие нафтохиноидные соединения. Ранее было показано, что в пигментных клетках специфически экспрессируются три группы генов: кластер генов поликетидсинтетаз (*pks*), гены сульфотрансфераз (*sult*), и семейство генов флавин-содержащих монооксидаз (*fmo*).

Продукция нафтохиноидных пигментов в культуре клеток морских ежей может стать альтернативой аквакультуре или химическому синтезу нафтохинонов. Мы разработали новую технологию направленной дифференцировки пигментных клеток морских ежей в культуре без трансфекции их эмбрионов чужеродными генами и определили уровень экспрессии *pks* и *sult* генов биосинтеза нафтохинонов (RT-qPCR). При культивировании клеток морского ежа в целомической жидкости травмированных морских ежей наблюдались высокая дифференцировка пигментных клеток в культуре и усиленная экспрессия генов *pks* и *sult*.

Изучена экспрессия генов (*pks* и *sult*), участвующих в пигментной дифференцировке, при бактериальном воздействии на эмбрионы и личинки морских ежей *S. intermedius*. Миллионы эмбрионов, личинок и молоди морских ежей погибают от бактериальных болезней, несмотря на высокую антибактериальную активность нафтохинонов в пигментных клетках морских ежей. Мы установили, что бактерии, выделенные из целомической жидкости морского ежа *S. intermedius* (22 бактериальных штамма из 9 родов), подавляют развитие личинок морских ежей, при этом уровень экспрессии генов (*pks* и *sult*) резко возрастает.

Проведен также анализ экспрессии генов (*pks* и *sult*) биосинтеза нафтохиноидных пигментов в культуре клеток морских ежей до и после замораживания (трехступенчатое с низкой скоростью охлаждения - 1-2°C/мин) в присутствии разных комбинаций проникающих (диметилсульфоксид, этиленгликоль) и непроникающих (трегалоза, поливинилпирролидон) криопротекторов. Самое большое количество пигментных клеток и соответствующий самый высокий уровень экспрессии генов *pks* и *sult* были обнаружены при замораживании клеток с трегалозой или в смеси трегалозы и диметилсульфоксида (уровень жизнеспособности клеток морских ежей составил 65-80%).

Исследовано влияние деметилирующего ДНК агента - 5-азациитидина на эмбриональное развитие морских ежей *S. intermedius* и уровень экспрессии *pks* генов биосинтеза нафтохинонов. Анализ морфологии эмбрионов и личинок морского ежа, обработанных 5-азациитидином, показал значительное повышение количества пигментных клеток в исследуемых эмбрионах и личинках в зависимости от дозы 5-азациитидина. Также отмечено значительное усиление экспрессии генов *pks* после обработки эмбрионов и личинок морского ежа 5-азациитидином.

Наши результаты способствуют пониманию биологии пигментов и создают возможности для дальнейшего процесса культивирования клеток морских ежей с целью получения морских натуральных продуктов с высокой биологической активностью.

Перспективы применения эндофитов винограда в биотехнологии

О.А. Алейнова, Н.Н. Нитяговский, А.Р. Супрун, А.А. Ананьев, К.В. Киселев
ФНЦ биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: aleynova@biosoil.ru

Эндофиты растений – это микроорганизмы, которые обитают в живых тканях растения-хозяина и вступают с ним в различные взаимоотношения, начиная от симбиотических и заканчивая патогенными. Микробный эндофитизм существует практически у каждого растения на земле, включая дикорастущие растения. Эндофиты, выделенные из диких родственников одомашненных растений, используют в качестве био-инокулянтов в близкие сорта для снижения биотического стресса, успешной поддержки роста растений в почве с дефицитом питательных веществ и обеспечения устойчивости к насекомым. Виноград является одной из самых востребованных сельскохозяйственных культур в мире. Многие эндофитные микроорганизмы винограда обладают высоким потенциалом подавления развития болезней винограда, стимулирования роста, а также полезных свойств урожая. Микробиом дикорастущего винограда является многообещающим источником средств биоконтроля, которые могут быть полезны для культурного винограда.

Используя секвенирование нового поколения (NGS) и классические методы микробиологии, мы провели анализ эндофитных сообществ бактерий и грибов дикорастущих сортов винограда *Vitis amurensis* Rupr. и *Vitis coignetiae* Pulliat, произрастающих на Дальнем Востоке России, а также наиболее распространенных сортов винограда Приморского края: *Vitis vinifera* × *Vitis amurensis* cv. Адель (гибрид № 82-41 F3), *Vitis riparia* × *V. vinifera* cv. Мукузани (родословная неизвестна), *Vitis labrusca* × *V. riparia* cv. Альфа и *Vitis* Elmer Swenson 2-7-13 cv. Прэйри стар. Согласно анализу, NGS три таксона бактерий *Sphingomonas*, *Methylobacterium*, *Hymenobacter* и два таксона грибов *Cladosporium* и *Aureobasidium* были наиболее распространенными бактериальными родами для *V. amurensis* и *V. coignetiae*. Полученные данные показали, что эндофитное сообщество бактерий и грибов дикорастущего *V. amurensis* было богаче по сравнению с виноградом *V. coignetiae*, культивируемым виноградом *V. vinifera* и у культивируемыми сортами винограда Приморского края. Далее мы исследовали влияние отдельных эндофитных микроорганизмов винограда на рост модельного растения *Arabidopsis thaliana*, подавление широко-распространенного патогена винограда *Botrytis cinerea*, а также провели поиск эндофитов, которые способны синтезировать БАВ. Было установлено положительное влияние отдельных эндофитов (бактерий рода *Bacillus*, *Gordonia*, *Sphingomonas* и грибов рода *Alternaria*, *Didymella*, *Exobasidium*) на рост и урожайность растений *A. thaliana* после совместного проращивания. ВЭЖХ-МС/МС анализ показал, что эндофитные микроорганизмы винограда содержат питательные элементы и регуляторы роста растений. Показано, что эндофитные бактерии винограда *Bacillus* sp. и грибы *Phoma* sp. ингибируют рост *B. cinerea*, возможно из-за содержания таких веществ как сурфактин Ц и цикло(-Лей-Про). Обнаружено наличие стильбен-подобных веществ в эндофитных микроорганизмах (*Alternaria* sp., *Gordonia* sp., *Biscognioaexia* sp.), но содержание данных веществ было незначительным для применения в биотехнологии.

Таким образом, эндофитные микроорганизмы дикорастущего винограда представляют высокую ценность для поиска потенциально полезных микроорганизмов для виноградарства.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-74-10001.

**Полногеномный и метаболомный анализ эндофитной бактерии
винограда *Vitis amurensis* Rupr. рода *Gordonia* sp., стимулятора роста растений**

А.А. Ананьев, О.А. Алейнова, Н.Н. Нитяговский, А.Р. Супрун, З.В. Огнева, К.В. Киселев
ФНЦ биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии, ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: ananbev.all@yandex.ru

В последние годы активно развивается направление, основанное на изучении влияния эндофитов растений на устойчивость растений к биотическим и абиотическим стрессам, а также на урожайность растений и качество продукции, в том числе на содержание полезных для здоровья человека веществ. Использование эндофитов в сельском хозяйстве дает возможность увеличить урожайность и повысить устойчивость сельскохозяйственных культур к различным видам стрессов, при одновременном снижении воздействия сельского хозяйства на окружающую среду.

Данная работа посвящена исследованию эндофитной бактерии рода *Gordonia*, выделенной из дикорастущего винограда *Vitis amurensis*, как стимулятора роста растений. В опытах по влиянию эндофитных микроорганизмов *V. amurensis* на ростовые характеристики модельного растения *Arabidopsis thaliana* было обнаружено, что бактерии рода *Gordonia* способны стимулировать рост растений, а именно увеличивают диаметр розетки *A. thaliana*. Также было показано, что увеличение роста растений *A. thaliana* происходит за счет достоверной активации экспрессии генов биосинтеза ауксинов, таких как *AtNit1*, *AtTAA*, *AtYUCCA1*.

Для определения причин позитивного влияния на рост растений *A. thaliana* эндофитных бактерий винограда было произведено полногеномное секвенирование при помощи секвенатора Oxford Nanopore (Великобритания) на базе ООО «Геноаналитика» г. Москва. Кроме того, был произведен метаболомный анализ экстракта из *Gordonia*, при помощи ВЭЖХ-МС/МС на базе центра коллективного пользования передовой масс-спектрометрии Сколковского института науки и технологий. В результате анализа полногеномного секвенирования были обнаружены гены *trpA*, *trpB*, *trpC*, *trpD*, *trpE*, *aldA*, участвующие в биосинтезе фитогормона индолил-3-уксусной кислоты (ИУК), который является стимулятором роста растений. Также обнаружены гены *narK*, *metK*, *cysU*, *sbp*, ответственные за ассимиляцию питательных элементов, таких как азот, сера и железо. По результатам ВЭЖХ-МС/МС были детектированы фитогормоны ИУК, 6-бензиладенин (БАП) и салициловая кислота (СК). Известно, что фитогормоны ИУК и БАП стимулируют рост и развитие растений, а СК - регулятор роста, выполняющий в растениях разнообразные физиологические функции, в том числе способен индуцировать системную приобретенную устойчивость растений к разнообразным по природе возбудителям болезней. Так же были обнаружены вещества, обладающие антимикробными свойствами, такие как сурфактин Ц - антибиотик широкого спектра действия, увеличивающий проницаемость бактериальных мембран, и сульфаметазин - антибиотик широкого спектра действия, подавляющий рост бактерий за счет нарушения биосинтеза ростовых факторов, таких как фолиевая и дигидрофолиевая кислоты.

Таким образом, эндофитные бактерии *Gordonia* sp. являются перспективным штаммом для создания биопрепаратов для стимуляции роста и защиты растений от биотического стресса.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-74-10001.

**Физиолого-биохимические характеристики кишечных симбиотических энтеробактерий
колорадского жука и их взаимодействие с энтомопатогенными бактериями
*Bacillus thuringiensis***

А.С. Артемченко^{1,2}, Т.Н. Клементьева¹, О.В. Поленогова¹

¹Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск

электронная почта: anna.artemchenko@bk.ru

Колорадский жук *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae) является одним из важнейших широкораспространенных вредителей растений семейства Solanaceae. Колорадский жук обладает высокой миграционной активностью и пластичностью [1]. Для борьбы с данным вредителем используют различные инсектициды на основе бактерий, грибов и/или их метаболитов [2]. *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) – спороформирующие энтомопатогенные бактерии, формирующие Сгу-токсины, обладающие высокоспецифичным действием по отношению к насекомым. Активация Сгу-токсина до протоксина происходит в щелочных условиях кишечника, приводя к формированию пор эпителиального слоя кишечника насекомых, лизису клеток и последующей гибели хозяина [3]. Развитие бактериоза у колорадского жука, вызванного *Bt* приводит к повышению численности энтеробактерий в среднем отделе кишечника насекомых [4]. Мы предполагаем, что симбиотические энтеробактерии колорадского жука играют значительную роль в развитии инфекционного процесса, вызванного *Bt*, посредством продукции метаболитов и изменения рН в среднем отделе кишечника хозяина.

В данной работе мы использовали штаммы бактерий семейства *Enterobacteriaceae* из коллекции микроорганизмов лаборатории Патологии насекомых ИСиЭЖ СО РАН, которые были выделены из кишечника личинок колорадского жука, инфицированных *Bt*. Для выбранных штаммов бактерий р. *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia* и *Pantoea* были описаны физиолого-биохимические характеристики. В серии *in vitro* тестов методом совместного культивирования симбиотических бактерий и *Bt* subsp. *tenebrionis* (*morrisoni*) на плотных и жидких питательных средах были выявлены антагонистические взаимодействия. Влияние энтеробактерий на развитие *Bt*-бактериоза у колорадского жука изучали путем совместного скармливания бактерий личинкам 4-го возраста. На протяжении 6 суток учитывали гибель насекомых и отслеживали изменения рН в содержимом среднего отдела кишечника личинок. Взаимодействие энтеробактерий и *Bt in vivo* приводило к 1.3-5-кратному увеличению гибели личинок жуков, а синергетический эффект зачастую наблюдался на протяжении всего периода наблюдения. Нами регистрировалось в 1.1-1.15 раз повышенное значение рН в содержимом среднего отдела кишечника личинок после скармливания смеси бактерий в первые 24 часа при совместном скармливании бактерий личинкам жуков (р < 0.05, по сравнению со скармливанием только *Bt*).

Полученные результаты позволяют предположить, что увеличение численности энтеробактерий при развитии *Bt*-бактериоза, может способствовать защелачиванию содержимого кишечника личинок жуков, что будет обеспечивать необходимые условия для активации Сгу-токсинов *Bt*. Однако, подтверждение нашей гипотезы требует дальнейших исследований.

Исследование поддержано грантом РНФ № 22-76-10051.

Ссылки:

1. Cingel A. et al. // Int. J. Mol. Sci. 2016. V. 17. P. 1538.
2. Alyokhin A. et al. // Am. J. Potato. Res. 2008. V. 85. P. 395-413.
3. Melo A.L.A. et al. // Crit. Rev. Biotechnol. 2016. V. 36. N. 2. P. 317-326.
4. Polenogova O.V. et al. // PLoS ONE. 2021. V. 16. N. 3. ID. e0248704.

Структурная организация генов оксидоскваленциклаз голотурии *Eupentacta fraudatrix*

С.Н. Балдаев¹, К.В. Исаева², А.И. Иващенко², М.П. Исаева¹

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

электронная почта: baldaevsergey@gmail.com

Морские беспозвоночные представляют собой источник новых биологически активных соединений. Среди них голотурии хорошо известны в качестве ценного источника необычных вторичных метаболитов – тритерпеновых гликозидов [1]. ТИБОХ ДВО РАН на протяжении многих лет изучает структуру и свойства вторичных метаболитов голотурий, в том числе *Eupentacta fraudatrix*. К настоящему времени описано несколько сотен уникальных тритерпеновых гликозидов из различных голотурий, для которых обнаружен ряд биологических свойств: цитотоксическая, гемолитическая, антигрибковая, противоопухолевая, радиопротекторная, иммуномодулирующая активность [2]. Интерес к этим метаболитам продолжает оставаться на высоком уровне. Однако их получение в достаточном количестве осложняет их практическое применение. Изменение ареалов обитания и размеров популяций голотурий не позволяет использовать этих животных в качестве натурального и промышленного сырья.

Оксидоскваленциклаза – ключевой фермент в биосинтезе тритерпеновых гликозидов, отвечающий за формирование агликона путем циклизации 2,3-оксидосквалена. В отличие от большинства животных, у голотурий обнаружены две оксидоскваленциклазы, соответственно кодируемые двумя генами *OSC1* и *OSC2* [3].

Нами установлены структуры и приблизительные размеры генов оксидоскваленциклаз голотурии *E. fraudatrix*. Размер гена *OSC1* находится в диапазоне от 30 т.п.н. до 40 т.п.н., размер *OSC2* находится в диапазоне от 18 т.п.н. до 25 т.п.н. Каждый из генов состоит из 18 экзонов и 17 интронов. Размеры соответствующих экзонов одинаковы. В докладе обсуждается проблема гетерогенности интронов и проводится сравнение с известными оксидоскваленциклазами *Apostichopus japonicus*.

Ссылки:

1. Kalinin V.I. et al. // *Phytochemistry Reviews*. 2005. V. 4. P. 221-236
2. Kalinin V.I. et al. // *Steroids*. 2019. V. 147. P. 42-51
3. Thimmappa R. et al. // *Nature Chemical Biology*. 2022. V. 18. P. 774-781

**Молекулярно-биологические подходы
для визуализации протеасом в живых клетках**

А.В. Буров, Е.В. Григорьева, В.Л. Карпов, А.В. Морозов
Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва
электронная почта: alexanderburov1998@gmail.com

Поддержание динамического равновесия протеома является необходимым условием стабильного метаболизма и долгосрочного обеспечения жизнедеятельности любого типа клеток и органов [1]. Основной молекулярной системой контроля протеостаза в эукариотических клетках является убиквитин - протеасомная система (УПС). Ключевым структурно-функциональным элементом УПС являются протеасомы, непосредственно осуществляющие селективный внутриклеточный протеолиз [2]. Протеасомы участвуют в регуляции множества сигнальных путей и метаболических процессов [3]. В связи с этим, нарушения функций протеасом часто сопровождаются развитием различных патологий, в числе которых нейродегенеративные [4], аутоиммунные и онкологические заболевания [5]. Учитывая вовлеченность протеасом почти во все аспекты клеточного метаболизма, экспрессия их генов, внутриклеточная локализация, ассоциация с другими белками и участие в межклеточном сигналинге представляют большой интерес и требуют разработки новых моделей для визуализации протеасом и их протеолитической активности в клетках.

На основе линии колоректальной карциномы SW620 с использованием высокоточной системы редактирования генома CRISPR – Cas9D10A нами были получены клеточные модели, синтезирующие каталитические субъединицы различных типов протеасом, слитые с флуоресцентными белками. Методом ПЦР, ОТ-ПЦР и секвенированием показано внедрение генов, кодирующих флуоресцентные белки на 3' концы генов субъединиц протеасом, а также синтез соответствующих транскриптов. Таким образом, важной особенностью полученных линий является сохранение эндогенных механизмов, регулирующих экспрессию химерных субъединиц протеасом. Методом иммуноблотинга и иммунопреципитации показано встраивание химерных субъединиц в состав протеасом в клетках. С помощью данных моделей с использованием конфокальной микроскопии показана преимущественно цитоплазматическая локализация различных форм протеасом в клетках. Кроме того, показано повышение экспрессии каталитических субъединиц протеасом под действием ряда противоопухолевых препаратов и биологически активных соединений, приводящее к динамическим изменениям в субъединичном составе и тотальном пуле протеасом. В целом, разработанные модели позволяют по флуоресценции оценивать экспрессию, локализацию протеасом в клетках колоректальной карциномы, а также визуализировать перестройки УПС и оценивать баланс между разными формами протеасом в клетках в динамике под действием различных препаратов.

Исследование поддержано грантом РФФ № 23-14-00224.

Ссылки:

1. Dikic I. // Annu Rev Biochem. 2017. V. 86. P. 193-224.
2. Cohen-Kaplan V. et al. // Int. J. Biochem. Cell Biol. 2016. V. 79. P. 403–418.
3. Ciechanover A. // Best Pract. Res. Clin. Haematol. 2017. V. 30, N. 4. P. 341–355.
4. Ciechanover A. et al. // Exp. Mol. Med. 2015. V. 47, N. 3. P. e147.
5. Morozov A.V. et al. // Front. Oncol. 2019. V. 9. P. 1-21.

**Противоопухолевые препараты модулируют функциональную активность
и повышают экспрессию иммунных протеасом в трансформированных клетках**

Е.В. Григорьева^{1,2}, К.А. Шабанская^{1,2}, Т.Г. Малеева^{1,3}, А.В. Буров¹, В.Л. Карпов¹, А.В. Морозов¹

¹Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

²Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет),
Долгопрудный

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

электронная почта: grigorieva.ev@phystech.edu

Убиквитин-протеасомная система (УПС) обеспечивает регуляцию метаболизма клетки посредством деградации внутриклеточных белков. Ключевыми компонентами УПС являются протеасомы – мультисубъединичные белковые комплексы, непосредственно разрушающие белковые субстраты [1]. Известны различные формы протеасом. Экспрессия иммунных протеасом в клетках опухолей имеет прогностическое значение. В этой связи модуляция экспрессии отдельных форм протеасом в клетках имеет особый научный интерес. Другими участниками поддержания гомеостаза клетки являются протеинкиназы – ферменты, катализирующие перенос концевой фосфатной группы с АТФ на другие субстраты. В последнее время активно используются в терапии противоопухолевые препараты на основе ингибиторов протеинкиназ [2,3,4]. Однако влияние такого рода соединений на пул протеасом в опухолевых клетках практически неизучено.

В данной работе было исследовано влияние ингибиторов протеинкиназ: Сорафениб, Регорафениб и Гефитиниб на пул протеасом в клетках аденокарциномы прямой кишки. Были использованы две генетически модифицированные клеточные линии, экспрессирующие протеасомы, содержащие меченную белком mCherry иммунную субъединицу $\beta 5i$. Кроме того, клетки экспрессируют белки-репортеры функционального состояния УПС: GFP, слитый с убиквитином (Ub-GFP), и GFP, слитый с орнитиндекарбоксилазой (GFP-ODC), соответственно. Это позволяет одновременно оценивать активность протеасом, а также экспрессию субъединиц иммунных протеасом по флуоресценции клеток. Клетки стимулировали различными концентрациями ингибиторов протеинкиназ в течение 72 часов. После чего образцы клеток анализировали при помощи проточной цитометрии.

Показаны концентрационно-зависимые изменения содержания репортерных белков на основе GFP в клетках. Полученные данные указывают на увеличение активности протеасом после стимуляции малыми дозами ингибиторов протеинкиназ Регорафениб, Сорафениб и Гефитиниб и снижение активности протеасом при использовании высоких концентраций препаратов. При этом, во всех образцах стимулированных клеток выявлено постепенное возрастание яркости флуоресценции mCherry, что указывает на повышение содержания иммунных протеасом. Эти данные были подтверждены количественной ПЦР и методом иммуноблоттинга.

Таким образом, полученные результаты указывают на то, что стимуляция клеток ингибиторами протеинкиназ может приводить к разнонаправленным изменениям активности протеасом, сопровождающимся повышением экспрессии иммунных субъединиц. Это, в свою очередь, приводит к реорганизации пула протеасом и может оказывать существенное влияние на развитие заболевания.

Исследование поддержано грантом РФФ № 23-14-00224.

Ссылки:

1. Dahlmann B. // Archives of biochemistry and biophysics. 2016. V. 591. P. 132-140.
2. Wilhelm S. et al. // Nature reviews Drug discovery. 2006. V. 5, N 10. P. 835-844.
3. Arai H. et al. //Cancer treatment reviews. 2019. V. 81. P. 101912.
4. Herbst R. S. et al. //Nature Reviews Cancer. 2004. V. 4, N 12. P. 956-965.

**Молекулярно-генетические подходы
повышения эффективности биологических инсектицидов**

Е.В. Гризанова^{1,2}

¹Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск

²Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск
электронная почта: katalasa_2006@yahoo.com

Согласно стратегии научно-технологического развития России, переход к высокопродуктивному и экологически чистому агрохозяйству, рациональное применение средств биологической защиты сельскохозяйственных растений, является приоритетным направлением развития науки. Получение экологически чистой продукции, ведение органического сельского хозяйства, снижение использования химических пестицидов и агрохимикатов, снижение выбросов климатически активных газов, возможно благодаря использованию биологических средств защиты растений. Энтомопатогенные бактерии и грибы являются основой биологических инсектицидов для защиты сельскохозяйственных растений от различных насекомых вредителей во всем мире. Важным аспектом снижения эффективности биологических препаратов является формирование устойчивых популяций насекомых вредителей. Современное развитие молекулярно-генетических подходов позволяет совершенствовать существующие биоагенты и разрабатывать биорациональные препараты нового поколения.

В докладе будут представлены современные подходы повышения вирулентности биологических агентов и их эффективности в защите растений от насекомых вредителей. Будут рассмотрены механизмы устойчивости насекомых к бактериям и грибным патогенам (Grizanova et al., 2014; Dubovskiy et al., 2016; Mukherjee et al., 2017; Grizanova et al., 2019). Будут показаны варианты повышения вирулентности бактерий *B. thuringiensis* и грибов рода *Metarhizium* за счет подавления защитных реакций насекомых (Grizanova et al., 2021). Рассмотрим стратегии жизненного цикла бактерий *B. thuringiensis* в чувствительном и устойчивом хозяине (Grizanova et al., 2022). Коэволюция патогена и хозяина, которая приводит к увеличению не только сопротивляемости организма хозяина, но и вирулентности патогена, будет рассмотрена на примере сравнения полных геномов бактерий, пассированных через устойчивого хозяина. Будут продемонстрированы варианты повышения вирулентности грибных энтомопатогенов за счет генетической модификации (Grizanova et al., 2021).

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2021-1401.

**Использование РНК интерференции
для контроля численности насекомых вредителей**

И.М. Дубовский^{1,2}

¹Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск

²Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск
электронная почта: dubovskiy2000@yahoo.com

РНК интерференция (RNAi) — это современный метод блокирования активности генов-мишеней, который всё чаще используется не только в фундаментальных исследованиях, но и в защите растений от различных вредителей. RNAi - это высокоспецифичный процесс «глушения» генов, когда свободная дцРНК проникает в клетки вредителя и запускает специфическое связывание и разрушение молекул матричной РНК (мРНК). Этот метод стал популярным для борьбы с вредителями, поскольку он является очень избирательным и может считаться биорациональным подходом для контроля численности вредных организмов. В докладе будут рассмотрены основные подходы и современные тренды в RNAi, применяемой в современной защите растений. Использование RNAi для создания трансгенных растений, синтетические препараты на основе РНК интерференции и способы усиления биопрепаратов за счет дцРНК, а также создание симбионтных рекомбинантных микроорганизмов способных блокировать ключевые гены, связанные с жизнедеятельностью насекомых-вредителей.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2021-1401.

**Влияние антибиотикорезистентных симбиотических бактерий насекомых
на развитие бактериозов, вызванных *Bacillus thuringiensis***

Т.Н. Клементьева, О.В. Поленогова, Н.А. Крюкова, В.В. Глупов
Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск
электронная почта: red.klen@yandex.ru

Микробиота играет значительную роль в жизнедеятельности насекомых, в том числе в их устойчивости к действию различных патогенных микроорганизмов. Микробные сообщества способны предотвратить колонизацию кишечника патогенами за счёт продукции различных вторичных метаболитов. Длительное воздействие ксенобиотиков может приводить к дисбалансу микробного состава, а также к формированию резистентной микрофлоры [1]. В свою очередь, дисбаланс микробиоты влечёт за собой изменения физиологических процессов и чувствительности насекомых к действию энтомопатогенных бактерий, в том числе *Bacillus thuringiensis* [2-3]. Цель данного исследования – выявить значение антибиотикорезистентных симбиотических бактерий в развитии бактериальных инфекций у насекомых, вызванных бактериями *B. thuringiensis*.

Лабораторную линию вощиной огнёвки *Galleria mellonella* L. непрерывно содержали на диете с антибиотиком (амикацин). Через 18 генераций был проведен анализ микробиоты среднего отдела кишечника личинок *G. mellonella* с помощью метагеномного секвенирования 16S rRNA. Результаты анализа выявили кардинальные изменения в микробиоте – диета с антибиотиком привела к 73-кратному увеличению обилия минорных симбионтов *Enterococcus mundtii* в популяции кишечных бактерий. Преобладающие группы бактерий в микробиологических посевах были изолированы и идентифицированы. Анализ ферментативной активности в среднем отделе кишечника личинок вощиной огневки показал незначительное ($\times 1.14$), но достоверное увеличение активности кислых протеаз ($p = 0.02$, по сравнению с обычной диетой). Данные изменения сопровождались потерей чувствительности личинок *G. mellonella* к действию энтомопатогенных бактерий *B. thuringiensis*. Выделенные *E. mundtii* были интродуцированы совместно с *B. thuringiensis* в кишечник личинкам вощиной огневки нативной линии (культивирование осуществлялось на обычной диете без добавления антибиотика). Результаты биотеста показали значительное 1.5-кратное снижение чувствительности насекомых к воздействию бактерий *B. thuringiensis*.

Мы считаем, что увеличение обилия *E. mundtii* в среднем кишечнике личинок *G. mellonella* может выступать своеобразным механизмом адаптации огневки к измененным экологическим условиям, направленных на защиту клеток и тканей хозяина от воздействия токсических веществ и патогенов.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-76-10051.

Ссылки:

1. Larsson D.G.J. et al. // Nat. Rev. Microbiol. 2021. V. 20. P. 257-269.
2. Ignasiak K. et al. // BMC Microbiology. 2018. V. 18, N.1. P. 228.
3. Li G. et al. // Chemosphere. 2020. V. 248. P. 126019.

Влияние углеводов на экспрессию генов алкан-1-монооксигеназ *alkB* у родококков

Л.П. Комарова^{1,2}, А.В. Криворучко^{1,2}, И.Б. Ившина^{1,2}

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь

²Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Пермь

электронная почта: dulika5365@gmail.com

Характерной чертой актиномицетов рода *Rhodococcus* является наличие широкого спектра ферментов для биodeградации нефтяных углеводов [1–3]. Субстратная специфичность этих ферментов, а также метаболические пути биodeградации углеводородных поллютантов родококками до сих пор мало изучены. Цель настоящей работы – исследовать изменение уровней экспрессии генов *alkB*, кодирующих синтез алкан-1-монооксигеназ, у родококков в присутствии *n*-алканов C3–C16.

В работе использовали штамм *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 231 (DDBJ/EMBL/GenBank acc. по CCSD01000001–CCSD01000115) из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним коллекции ИЭГМ, номер 285 во Всемирной федерации коллекций культур, www.iegmcoll.ru, УНУ/ЦКП 73559/480868) [3]. В геноме штамма обнаружено 2 гена *alkB*, степень гомологии между которыми составляет 75 и 56% для нуклеотидных и аминокислотных последовательностей соответственно. Бактерии выращивали в среде LB или минерально-солевой среде “*Rhodococcus-surfactant*” (RS) в присутствии 0,1 вес. % D-глюкозы, глицерина, *n*-пентана, *n*-гексана, *n*-гептана, *n*-октана, *n*-нонана, *n*-декана, *n*-ундекана, *n*-додекана, *n*-тридекана, *n*-тетрадекана, *n*-пентадекана, *n*-гексадекана, *o*-ксилола, нафталина или фенантрена, либо в атмосфере воздух : пропан или воздух : *n*-бутан 4:1. РНК выделяли из клеток тризольным методом, затем проводили реакции обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени со специфическими праймерами к генам *alkB1* и *alkB2*, в которых контролировали исходное содержание РНК и кДНК. Уровни экспрессии генов *alkB* определяли по количеству полученных копий данных генов. Сравнивали уровни экспрессии в клетках, выращенных в присутствии *n*-алканов C3–C16 – предполагаемых индукторов *alkB*, и контролях – средах без индукторов (LB, среда RS без ростовых субстратов, с глюкозой, глицерином или ароматическими углеводородами).

По нашим данным, алкан-1-монооксигеназы *AlkB* *R. ruber* обладают широкой субстратной специфичностью, при этом предпочтительными субстратами для них являются *n*-алканы с короткой (C3–C4) и средней (C9–C12) длиной углеродной цепи. Уровни экспрессии генов *alkB* в присутствии этих соединений в 37–350 000 раз превышает таковые в контролях. В присутствии токсичных и летучих *n*-алканов C5–C8 уровень экспрессии *alkB* не изменяется, может быть снижен на 20–80% либо незначительно увеличен в 2–3 раза по сравнению с контролями. Увеличение уровня экспрессии *alkB* в присутствии длинноцепочечных *n*-алканов C13–C16 составляет от 8 до 327 раз по сравнению с контролями. В основном значительно изменяется уровень экспрессии одного из генов *alkB*, лишь в присутствии *n*-октана и *n*-тетрадекана отмечено одинаковое изменение данного показателя для обоих ферментов. Полученные результаты согласуются с данными литературы об экспрессии монооксигеназ у других бактерий [4].

Исследование поддержано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации, госзадание № 122031400671-1, АААА-А19-119112290008-4, соглашение № 75-15-2021-1051.

Ссылки:

1. Ившина И.Б. и др. // Углеводородокисляющие родококки: особенности биологической организации под воздействием экополлютантов. Монография-атлас / Под ред. И.Б. Ившиной. УрО РАН, 2021. 140 с.
2. Cappelletti M. et al. // Biology of *Rhodococcus* / Ed. by H.M. Alvarez. Springer Nature Switzerland AG 2019. P. 23–60.
3. Ivshina I.B. et al. // GenomeA. 2014. V. 2, N. 6. e01297-14.
4. Koch D.J. et al. // Applied and Environmental Microbiology. 2009. V.75, N. 2. P. 337–344.

**Исследование механизмов активации моноцитов костного мозга мышей,
вакцинированных БЦЖ**

Л.Г. Кондратьева^{1,2}, А.И. Кузьмич¹, И.А. Линге³, Д.А. Дидыч¹, И.В. Алексеенко^{1,2}

¹*Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова
РАН, Москва*

²*Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва*

³*Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза, Москва
электронная почта: liakondratyeva@yandex.ru*

Известно, что использование вакцины БЦЖ способствует неспецифичному увеличению устойчивости к другим заболеваниям. Помимо формирования специфического иммунитета против микобактерий БЦЖ также способна индуцировать обучение врожденного иммунитета, сопровождающееся метаболическим и эпигенетическим перепрограммированием клеток врожденного иммунитета (например, макрофагов, моноцитов, дендритных клеток), которое усиливает провоспалительное и противомикробное действие клеток, опосредованное стимуляцией различных внутриклеточных сигнальных путей. В данной работе было проведено исследование особенностей взаимодействия БЦЖ с клетками врожденной иммунной системы в организме с целью углубления знаний о механизмах индукции «обученного» иммунитета.

В рамках данной работы было проведено исследование содержания клеток врожденной иммунной системы, выделенных из костного мозга мышей через три, семь и четырнадцать дней после вакцинации БЦЖ. С помощью проточной цитофлуориметрии было проведено фенотипирование популяций клеток врожденного иммунитета (моноцитов, нейтрофилов, натуральных киллеров). Было обнаружено снижение содержания НК-клеток относительно общего содержания иммунных клеток (CD45⁺) в костном мозге через три дня после введения БЦЖ, и увеличение содержания моноцитов (на 3 и 7 день после введения БЦЖ) и нейтрофилов (на 7 и 14 день эксперимента) по отношению к общему содержанию миелоидных клеток (CD11b⁺) костного мозга. С помощью FACS из костного мозга вакцинированных и не вакцинированных мышей на 3 день эксперимента были выделены популяции моноцитов. Выделенные клетки использовали для получения библиотек кДНК и их последующего секвенирования на платформе Illumina NovaSeq.

При сравнении транскриптомов популяций моноцитов из вакцинированных и контрольных животных было выявлено 35 генов, снижающих свой уровень экспрессии после вакцинации. Исследование функционального обогащения с использованием генной онтологии показало, что многие из найденных генов ассоциированы с процессами, связанными с негативной регуляцией воспалительных реакций (PGLYRP1, ETS1, ADA, IER3), кальций-опосредованной передачей сигналов (CCR1, CXCR2, ADA), негативной регуляцией апоптоза (CXCR2, HIP1R, PLAUR, ADA, IER3) и др. Согласно анализу сигнальных путей Reactome отдельные гены вовлечены в регуляцию врожденной иммунной системы и процессы дегрануляции нейтрофилов (ADGRG3, VAT1, GCA, CXCR2, PLAUR, PYGL, PGLYRP1, ABCA13). Таким образом, результаты исследования дополнили фундаментальные представления о механизмах обучения неспецифического иммунного ответа.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-14-00308.

**Твердая против жидкой: влияние среды на экспрессию генов
и вирулентность *Bacillus thuringiensis***

Т.И. Крыцына^{1,2}, Е.В. Гризанова^{1,2}, Е.А. Любецких², И.М. Дубовский^{1,2}

¹ *Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск*

² *Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск*
электронная почта: krytsyna@list.ru

Одними из главных агентов биологической защиты растений являются бактерии *Bacillus thuringiensis* (*Bt*). Высокая специфичность действия бактерий *Bt* против насекомых обусловлена продукцией Cry-токсина в процессе спорообразования. Кроме того, *B. thuringiensis* синтезируют ряд вторичных факторов вирулентности, которые синергетически усиливают действие Cry-токсина и имеют потенциальную прикладную ценность [1]. Постепенное формирование устойчивости насекомых к бактериям *Bt* ведет к снижению эффективности биопрепаратов, что требует более глубоких исследований вирулентного потенциала *B. thuringiensis*. Стратегия выживания бактерий в погибшем хозяине и профиль экспрессии генов, связанных с «чувством кворума» и вирулентностью, меняются в зависимости от уровня устойчивости насекомого к бактериям *Bt* [2]. Однако, вопрос о базовой экспрессии вторичных факторов вирулентности *Bt* вне хозяина, на искусственных питательных средах, все еще остается малоизученным.

В данной работе показаны различия в скорости спорообразования, уровне вирулентности при заражении личинок *G. mellonella*, и в экспрессии генов бактерий *Bt*, растущих в жидкой и на твердой средах. Выбор изучаемых генов обусловлен основными, последовательно сменяющимися друг друга стадиями жизненного цикла бактерий во время стационарной фазы, где плеiotропный регулятор вирулентной стадии PlcR контролирует экспрессию гемолизина Hbl и энтеротоксина Nhe [3]. Регулятор NprR активирует некротрофную стадию и контролирует липопептид курстакин Krs [4]. Экспрессия гена Cry2Ab и металлопротеазы InhA1 находится под контролем регулятора спорообразования Spo0A [5]. Регулятор переходного состояния SinR репрессирует образование биопленки, при этом необходим для роевой подвижности клеток, что обуславливает их равномерное распределение на поверхности твердой среды [6].

Результаты данной работы являются фундаментальной основой для более глубокого понимания жизненных процессов *B. thuringiensis* на искусственных питательных средах в контексте их биотехнологического использования.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2021-1401.

Ссылки:

1. Martínez-Zavala et al. // Front. Microbiol. 2020.
2. Grizanova et al. // Microbial Pathogenesis. 2023.
3. Sastalla et al. // PLoS ONE. 2013.
4. Dubois et al. // PLoS Pathog. 2012.
5. Deng et al. // Toxins. 2014.
6. Fagerlund et al. // PLoS ONE. 2014.

Полногеномный анализ *Faecalibacterium prausnitzii* как пробиотика нового поколения

М.И. Маркелова¹, М.Н. Синягина¹, Н.А. Данилова², С.Р. Абдулхаков¹, Р.А. Абдулхаков³,
Т.В. Григорьева¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

²ГАУЗ ГKB №7, Казань

³Казанский государственный медицинский университет, Казань

электронная почта: mimarkelova@gmail.com

Faecalibacterium prausnitzii – представитель филы *Firmicutes*, является одним из наиболее представленных членов микробиоты кишечника человека, доля которого в среднем составляет около 5–7%. *F. prausnitzii* в последние годы вызывает значительный интерес исследователей как маркер здоровой микробиоты кишечника, т. к. он обладает способностью снижать воспаление стенок кишечника за счет продукции противовоспалительных веществ. Одним из таких метаболитов является масляная кислота, которая, являясь основным энергетическим субстратом для эпителиоцитов кишечной стенки, выполняет ряд важных функций — стимулирует секрецию слизи, рост и пролиферацию клеток кишечного эпителия, поддерживает барьерную функцию стенки кишечника и обладает антиоксидантным и противовоспалительным действием за счет способности модулировать иммунный ответ хозяина. *F. prausnitzii* представляет собой грам-положительные неподвижные палочки, не формирует споры и является строгим анаэробом, что затрудняет его культивирование в лабораторных условиях. В связи с этим, метагеномное профилирование является оптимальным методом для изучения геномов бактерий данного вида.

Целью исследования явилось выявление генетического разнообразия *F. prausnitzii* из микробиоты здоровых добровольцев и пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника.

Тотальная ДНК была выделена из кала 37 пациентов с язвенным колитом (ЯК), 35 – с болезнью Крона (БК) и 42 здоровых контролей. Метагеномное секвенирование было произведено на платформе NextSeq 500. Была произведена метагеномная сборка с помощью программы metaSPAdes 3.15.4, анализ полноты и контаминации сборок геномов с помощью CheckM 1.1.6 и таксономическое профилирование с использованием программы PhyloPhlAn 3.0. Для аннотации высококачественных сборок геномов *F. prausnitzii* (полнота сборки >80%, контаминация <5%) использовалась программа Prokka 1.14.5, последовательности гена бутирил-КоА:ацетат-КоА-трансферазы (*but*) выравнивались с помощью ClustalO 1.2.4.

Штаммы *F. prausnitzii* были обнаружены в микробиоте 40 здоровых контролей, 28 пациентов с БК и 26 пациентов с ЯК, причем было выявлено 1–3 штамма в одном образце. Известно, что среди *F. prausnitzii* на основе геномной последовательности идентифицируют несколько клад, которые именуются буквами английского алфавита. В нашем исследовании было выявлено 9 клад данной бактерии, наиболее часто встречались представители клады В. Кроме того, для бактерий из метагеномов контролей обнаружилось большее разнообразие клад, чем для пациентов с БК и ЯК. Интересно, что последовательности гена бутирил-КоА:ацетат-КоА-трансферазы отличались у штаммов, относящихся к разнымкладам, что, вероятно, может влиять на эффективность синтеза бутирата данными бактериями. Таким образом, необходимы дальнейшие исследования для оценки эффективности синтеза бутирата штаммами *F. prausnitzii*, относящимися к разнымкладам, для выбора оптимального пробиотического штамма.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030) и финансируется за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету на выполнение государственного задания в сфере научной деятельности (№ FZSM-2023-0013).

**Разработка методической платформы для анализа компонент микробиоты
окружающей среды на основе ПЦР в реальном времени**

Т.В. Маряшкина, А.А. Казаков, В.В. Демкин

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

ООО «Нанодиагностика», Москва

электронная почта: maryashtanya@mail.ru

Водные микроорганизмы играют важную роль в экологии, качестве и безопасности водоёмов и рек, участвуют в глобальном потоке энергии и биогеохимических циклах [1, 2], а в пресноводной экосистеме города микроорганизмы могут выступать в качестве маркера экологического состояния его районов [3]. Зависимость водной микробиоты различных источников от антропогенных, биогенных и абиогенных факторов в условиях больших урбанизированных городов остаётся пока недостаточно изученной.

В настоящей работе изучали бактериальную, дрожжевую и цианобактериальную компоненты водных объектов г. Москвы методом ПЦР в реальном времени. Использовали тест-системы, разработанные в ООО «Нанодиагностика». Исследовали пробы воды, взятые в 20 прудах, расположенных в различных частях города, и в реке Яуза. Изучали закономерности количественного сезонного изменения компонент водной микробиоты.

Для дрожжевой и цианобактериальной компонент прослеживалась зависимость от продолжительности светового дня и температурного режима: чем ниже температурный режим, тем меньше количество компоненты (количественный пик наблюдали летом и ранней осенью). Для бактериальной компоненты такая прямая зависимость не характерна (количественные пики наблюдаются в различные времена года для разных водных объектов).

Также был произведен сравнительный анализ микробиоты прибрежного дна и водной глади, который показал преобладание бактериальной массы в поверхностных пробах, а в придонных пробах преобладание дрожжевой массы.

Дополнительно были рассмотрены взаимосвязи с физико-химическими параметрами воды и различными характеристиками водных объектов, такими как рН, минерализация и окислительно-восстановительный потенциал. При сопоставлении данных показателей и количественных изменений дрожжевой, бактериальной и цианобактериальной масс, прямой зависимости между физико-химическими показателями (кроме температуры) и изменениями исследуемых компонент водной микробиоты выявлено не было.

Таким образом, были установлены общие закономерности соотношения и сезонная динамика изменения бактериальной, дрожжевой и цианобактериальной компонент.

Использованный подход предлагает простой, быстрый и эффективный метод для изучения экологического состояния и видового разнообразия микроорганизмов в природных водоемах, и может быть использован в основеметодической платформы для проведения экологического мониторинга окружающей среды. Разрабатываются новые тест-системы для оценки других компонент микробиоты водоемов.

Ссылки:

1. Liu L. M. et al. // The ISME Journal. 2019. V. 13, N9. P. 219602208.
2. Sagova-Mareekova M. et al. // Water research. 2021. V. 191. P. 116767.
3. Zhang H. et al. // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2018. V. 15. P. 469.

**Повышение активности высокоточных форм эндонуклеазы Cas9
путем случайного мутагенеза и рационального дизайна**

А.А. Матвеева^{1,2}, А.И. Давлетшин¹, Д.С. Спасская¹, В.В. Тютяева^{1,3}, Д.Г. Гарбуз^{1,3},
Д.С. Карпов^{1,3}

¹Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

²Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет),
Долгопрудный

³Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины,
Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва
электронная почта: wooflit@gmail.com

Сайт-специфичное изменение нуклеотидной последовательности геномной ДНК *in vivo* играет важную роль в фундаментальной науке и биотехнологии. Особый интерес редактирование генома вызывает в контексте поиска методов терапии генетических заболеваний человека. Существует несколько систем редактирования генома, однако на данный момент наиболее широко используются редакторы на основе системы CRISPR/Cas. Среди них самой изученной, простой и удобной системой является CRISPR/Cas9 типа IIА из *Streptococcus pyogenes* (SpyCas9). Однако применение системы в терапевтических целях ограничено рядом недостатков, главным из которых является высокая вероятность расщепления ДНК в нецелевых местах.

Разработано множество высокоточных вариантов Cas9, однако их повышенная специфичность сопровождается значительным снижением эндонуклеазной активности [1]. Целью нашей работы является получение улучшенных вариантов Cas9, обладающих повышенной активностью при сохранении высокой специфичности.

Комбинируя известные мутации, повышающие активность и специфичность эндонуклеазы Cas9, мы получили ряд новых вариантов Cas9 [1]. Для оценки их активности и специфичности нами создана тест-система на основе дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и гена-мишени *ADE2*. Из полученных вариантов эндонуклеазы были выбраны несколько форм, показывающих более высокую специфичность по сравнению с диким типом без значительного ущерба для целевой активности редактирования ДНК. С помощью случайного мутагенеза нами получена новая мутация L1206P в РАМ-распознающем домене, повышающая активность некоторых высокоточных форм Cas9, но не влияющая при этом на их специфичность [2]. Путем рационального дизайна в ту же область был внесен ряд мутаций с целью дальнейшего повышения активности высокоточных форм Cas9. Были найдены еще 2 мутации (AL и EH), повышающие активность высокоточных вариантов Cas9 (в том числе на участках генома, редактирование которых осложнено присутствием стабильных нуклеосом).

Таким образом, полученные нами улучшенные варианты эндонуклеазы Cas9 являются перспективными кандидатами для дальнейшего улучшения технологии редактирования генома.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-14-00377.

Ссылки:

1. Jones S.K. et al. // Nat Biotechnol. 2021. V. 39. P 84–93.
2. Spasskaya D.S. et al. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2023. V. 107. P 2385–2401.

Разнообразие и роль протеасом в клетках и тканях

А.В. Морозов, В.Л. Карпов

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

электронная почта: Runkel@inbox.ru

Убиквитин-протеасомная система (УПС) обеспечивает деградацию большинства внутриклеточных белков [1]. Протеасомы являются центральными элементами УПС и представляют собой крупные (~ 15 нм) мультисубъединичные цилиндрические белковые комплексы, непосредственно осуществляющие деградацию белков до пептидов. Протеасомы многообразны [2]. В частности, описаны формы протеасом, содержащие различные каталитические субъединицы и присоединенные регуляторы. Следует отметить, что после протеолиза белков часть пептидов презентуется на мембранах клеток в качестве антигенов. Значительную роль в расширении спектра генерируемых пептидов играют так называемые “неконститутивные” протеасомы (промежуточные и иммунные протеасомы). Эти протеасомы содержат специфические каталитические субъединицы и задействованы в клеточном ответе на стресс, иммунологических и аутоиммунных реакциях [3], а также участвуют в развитии нейродегенеративных [4] и онкологических заболеваний [5,6]. Однако, особенности функционирования таких комплексов малоизучены.

В данной работе нами были получены новые данные о роли протеасом, в том числе неконститутивных в центральной нервной системе (ЦНС), при развитии нейродегенеративных заболеваний, а также описана их роль в процессах взаимодействия вирус-хозяин. В ходе исследований выявлены значительные различия в экспрессии генов, кодирующих субъединицы протеасом между разными отделами ЦНС. Установлено, что несмотря на крайне небольшое количество неконститутивных протеасом в нейронах гиппокампа, ингибирование их активности приводит к нарушениям процессов, связанных с формированием памяти. Наблюдаемые эффекты коррелировали с дифференциальной экспрессией генов, участвующих в синаптической пластичности, глутаминэргическом синапсе и синаптической передаче сигналов. Показано, что развитие болезни Альцгеймера сопровождается активацией экспрессии неконститутивных протеасом в коре головного мозга. Выявлено, что олигомеры бета-амилоида оказывают разнонаправленное действие на активность различных форм протеасом. Продемонстрировано, что активность неконститутивных протеасом в гемопоэтических клетках является важным фактором, препятствующим их заражению лентивирусами.

В целом, результаты работы указывают на значимость разнообразия пула протеасом в клетках и тканях. Таким образом, анализ протеасом может послужить основой для разработки терапевтических препаратов, направленных против широкого спектра заболеваний.

Исследование поддержано грантом РФФ № 23-14-00224.

Ссылки:

1. Ciechover & Kwon // Exp Mol Med. 2015. V.47, N 3:e147.
2. Dahlmann // Arch Biochem Biophys. 2016. V.591. P. 132-40.
3. Basler et al. // EMBO Mol Med. 2014. V. 6, N 2. P. 226–238.
4. Dantuma & Bott // Front Mol Neurosci. 2014. V.7. P. 70.
5. Morozov & Karpov // Front Oncol. 2019. V.9. P. 761.
6. Leister et al. // Arch Immunol Ther Exp. 2022. V.70, N 1. P. 5.

**Методы ранней диагностики возбудителя
ложной мучнистой росы *Plasmopara viticola*
среди винограда Дальнего Востока России**

Н.Н. Нитяговский, О.А. Алейнова, А.А. Ананьев, А.Р. Супрун, К.В. Киселёв
ФНЦ биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: niknit1996@gmail.com

Ложная мучнистая роса (милдью) является тяжёлым заболеванием, вызывающим существенные потери урожая винограда во всем мире. Одним из основных возбудителей ложной мучнистой росы является оомицет *Plasmopara viticola*. Разработка методов раннего выявления этого патогена и поиск эндофитных организмов, способных подавлять и сдерживать развитие *P. viticola*, являются важными задачами для перехода к высокопродуктивному и экологически чистому агрохозяйству.

С помощью высокопроизводительного секвенирования (NGS) ампликонов *ITS* (*ITS1f/ITS2* регион) и *16S* (V4 регион) нами были проанализированы 82 визуально здоровых и 2, имеющие симптомы заболевания, образца тканей (листья и стебли) дикорастущего винограда *Vitis amurensis* Rupr. и *Vitis coignetiae* Pulliat, произрастающих на различных участках Дальнего Востока России, а также сортового винограда *V. vinifera* × *V. amurensis* cv. Адель, *Vitis riparia* × *V. vinifera* cv. Мукузани (плодовый питомник «ЛПХ Макаревич», Приморский край), *Vitis labrusca* × *V. riparia* cv. Альфа и *Vitis* cv. Прэйри стар (виноградник «PrimOrganica», Приморский край). Также нами были разработаны праймеры на консервативные участки генома *P. viticola* для раннего выявления патогена с помощью количественной ПЦР с детекцией результатов в реальном времени по технологии EvaGreen.

Анализ данных NGS показал наличие патогена в 42 пробах винограда (из 84, 50%), а именно: в «ЛПХ Макаревич» (11 пораженных проб из 16 собранных), на винограднике «PrimOrganica» (3 из 12), в теплице лаборатории биотехнологии ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН (1 из 4), на острове Рикорда (4 из 4), в Верхне-уссурийском лесном стационаре (3 из 4), в п. Ивановка (1 из 6), в Силинском лесу (4 из 4), в п. Литовко (3 из 4), в ботаническом саду о. Сахалин (6 из 8), рядом с г. Невельск (2 из 4) и г. Холмск (4 из 4). Патоген *P. viticola* не был обнаружен в пригороде Владивостока (0 из 8) и на о. Русском (0 из 6). Разработанные праймеры для количественной ПЦР также показали свою эффективность в ранней детекции *P. viticola*. Используя метод анализа данных высокопроизводительного секвенирования DESeq2, мы сравнили здоровые и пораженные возбудителем ложной мучнистой росы пробы, чтобы выявить предположительных микроорганизмов-антагонистов этого патогена. В результате *in silico* анализа нами была отмечена повышенная представленность в здоровых пробах по сравнению с больными отдельными вариантами последовательностей ампликонов *16S* и *ITS*, относящихся к следующим родам: грибы *Vishniacozyma* и *Dissoconium*; бактерии *Pseudomonas* и *Chryseobacterium*.

Таким образом, высокопроизводительное секвенирование *ITS1* и ПЦР с детекцией результатов в реальном времени можно использовать для ранней диагностики возбудителя ложной мучнистой росы *P. viticola*. Полученная *in silico* информация о потенциальных микроорганизмах-антагонистах *P. viticola* является теоретической основой для создания средств биоконтроля ложной мучнистой росы винограда.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-74-10001.

**Бактериальные сообщества насекомых: влияние симбионтов
на развитие патогенезов и токсикозов**

О.В. Поленогова, Т.Н. Клементьева, А.С. Артемченко, Н.А. Крюкова, В.Ю. Крюков,
В.В. Глупов

Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск
электронная почта: ovr0408@yandex.ru

Среди биологических препаратов, используемых для контроля численности сельскохозяйственных вредителей, существенную долю составляют препараты на основе энтомопатогенных бактерий, грибов и их метаболитов. Для достижения высокой эффективности и стабильности применения данных биоинсектицидов необходимо учитывать взаимодействия между хозяином, его симбионтами и патогенными микроорганизмами. Симбиотические микроорганизмы насекомых оказывают существенное влияние на физиологическое состояние хозяина и играют ключевую роль в восприимчивости насекомых к инфекциям. Однако, механизмы взаимодействий симбиотической микрофлоры и энтомопатогенных микроорганизмов до сих пор остаются открытым вопросом.

Данная работа направлена на раскрытие механизмов взаимодействий симбиотической микрофлоры и энтомопатогенных бактерий *Bacillus thuringiensis*, что позволит выявить причинно-следственные связи образования вирулентных свойств у патогенных бактерий и восприимчивости у насекомых к действию *B. thuringiensis*. Данное исследование было выполнено на природной популяции одного из самых «сложных» видов, ввиду высокой экологической пластичности – колорадском жуке *Leptinotarsa decemlineata* (Say). Основу кишечного микробного сообщества личинок жуков составляют энтеробактерии, спироплазмы, лактококки. Анализ сообщества бактерий кишечника на основе высокопроизводительного секвенирования региона 16S rRNA показал, что инфекции и обработки инсектицидами приводят к увеличению обилия и разнообразия энтеробактерий. Преобладающие энтеробактерии в кишечнике личинок жуков, находящихся в различных патологических состояниях, были выделены и идентифицированы (по гену 16S rRNA). Реинтродукция энтеробактерий в кишечник личинок жуков показала, что данные симбионты способны значительно ускорять септицемию вследствие *B. thuringiensis*-инфекции или токсикоза, вызванного инсектицидами, что сопровождается глубокими изменениями в уровне иммунитета хозяина. В условиях дисбаланса микробного сообщества энтеробактерии способны приводить к онкоподобным изменениям в клетках тканей кишечника, нарушая их секреторную активность и запуская каскад последовательных иммунных реакций, что может пятикратно повышать восприимчивость насекомых к патогенным микроорганизмам.

Результаты данного исследования позволяют предположить, что выделение высокоактивных штаммов из кишечника насекомых после воздействия на них различными факторами (патогены, инсектициды и др.) является одним из перспективных подходов к селекции микроорганизмов. Данный подход к селекции позволит получить высоковирулентные штаммы микроорганизмов, способных проявлять инсектицидную активность. Разработка подходов в создании новых биологических препаратов, учитывающих взаимодействия микробиоты насекомых-вредителей сельского хозяйства и их патогенов, важно для создания комплексных и эффективных в применении биопрепаратов, необходимых для расширения возможности получения органической сельхозпродукции.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-76-10051.

**Низкоиммуногенная протеиновая платформа
с собственной адьювантной активностью для разработки вакцин**

А.И. Полинова, М.В. Волкова, А.А. Горбунов, А.В. Серкина, Е.П. Санникова,
И.И. Губайдуллин, М.Ю. Копаева, К.С. Плохих, Н.В. Булушова, Д.Г. Козлов
Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва
электронная почта: almpolinova@mail.ru

Вакцинация является одним из наиболее эффективных методов профилактики инфекционных заболеваний. Необходимым атрибутом современных вакцин являются платформы, обладающие низкой собственной иммуногенностью и высокой адьювантной активностью [1]. В связи с этим особый интерес вызывают платформы для получения самособирающихся антиген-презентирующих наночастиц (САПН) [2].

Ранее нами была предложена методика получения САПН, субъединицами которых служили фьюжн-белки, состоявшие из самоассоциирующегося пептида (САП) L₆KD, адапторного элемента и целевого антигена. Синтез трехкомпонентных фьюжнов производили в тельцах включения в клетках *E. coli*, их очистку осуществляли одновременно с ренатурацией и самосборкой. При этом САП формировал «ядро», а адаптерный элемент обеспечивал биосинтез и презентацию антигенов на поверхности мультивалентных САПН. В платформе первого поколения адаптерную функцию выполнял белок SUMO. Двукратное внутрибрюшинное введение САПН с интервалом 21 день без использования адьювантов вызывало сильный гуморальный иммунный ответ на целевой антиген у мышей линии C57BL/6 [3].

С целью снижения собственной иммуногенности был разработан миниатюрный вариант платформы, в составе которой адаптерный белок SUMO был заменен на искусственный пептид рерA1 размером около 30 а.о. Для испытания новой платформы был выбран модельный антиген OVA₂₅₇₋₂₈₀. Высокоэффективный синтез сферических САПН диаметром около 10 нм был подтвержден методами динамического светорассеяния и электронной микроскопии. Иммунизация мышей по описанной выше схеме обеспечила развитие гуморального ответа у всех животных. В интервале доз САПН от 10 до 50 мкг/мышь титры IgG, специфически распознающих целевой антиген OVA₂₅₇₋₂₈₀ и пептид рерA1 платформы, оставались постоянными и составили в среднем $24,3 \times 10^3$ и $1,4 \times 10^3$, соответственно. Титр антиген-специфичных IgG при иммунизации синтетическим пептидом OVA₂₅₇₋₂₈₀ в присутствии адьюванта Фрейнда составил $5,0 \times 10^3$.

Таким образом, от исходного варианта на основе белка SUMO новая платформа унаследовала высокую адьювантную активность, характеризуясь при этом низкой собственной иммуногенностью, что делает ее перспективным кандидатом на применение для разработки вакцин.

Ссылки:

1. Zhao L. et al. // *Vaccine*. 2014. V. 32, N. 3. P. 327-337.
2. Morales-Hernández S. et al. // *Vaccines*. 2022. V. 10, N. 9. P. 1447.
3. Gorbunov A.A. et al. // *Nanomedicine*. 2022. V. 17, N. 7. P. 461-475.

Изучение разнообразия и поиск доменов β -дефензин-подобных ингибиторов α -амилаз среди Стрекающих

Д.В. Попкова, Н.Ю. Отставных, О.В. Синцова, И.Н. Гладких, М.П. Исаева, Е.В. Лейченко
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: daria.vladipo@yandex.ru

Сахарный диабет – одно из самых серьезных заболеваний нашего столетия. Используемые в терапии препараты ограничены или имеют серьезные побочные эффекты, в связи с этим поиск новых источников соединений для эффективного лечения и/или профилактики является актуальным [1]. Магнификамид – пептидный ингибитор α -амилаз млекопитающих, β -дефензин, выделенный нами из яда морской анемоны *Heteractis magnifica*, может быть использован в качестве лекарственного средства для контроля постпрандиальной гипергликемии при сахарном диабете [2,3]. Целью настоящего исследования являлся поиск и изучение разнообразия гомологов магнификамида среди Стрекающих. С помощью подхода RACE (быстрой амплификации кДНК) в щупальцах *H. magnifica* были обнаружены семь изоформ магнификамида. Впервые установлена экзон-интронная структура генов, кодирующих магнификамиды, и выявлено сохранение интронов в области, кодирующей зрелый пептид. Предполагается, что феномен удержания интронов приводит к дополнительному разнообразию изоформ ингибиторов и обеспечивает их неофункционализацию в щупальцах морских анемонов.

Кроме того, в муцинах некоторых морских анемонов был обнаружен домен (40 а.о.), сходный с доменом ингибиторов α -амилаз (44 а.о.). TBLASTN поиск выявил 34 последовательности ингибиторов и 14 последовательностей муцинов, содержащих гомологичный фрагмент. Согласно филогенетическому анализу, морские анемоны делятся на две группы в зависимости от наличия β -дефензинподобных ингибиторов α -амилазы и/или муцин-ингибирующих доменов. Анализ изоэлектрических точек (pI) найденных пептидов позволил предположить, что pI около 5–6 у ингибиторов позволяет регулировать активность α -амилазы, тогда как $pI = 9$ у ингибиторных доменов в муцинах защищает углеводные группы муцинов от отщепления α -глюкозидазами.

Исследование поддержано грантом РФФ № 21-74-20147.

Ссылки:

1. Lin, X. et al. // Sci Rep. 2020. V. 10, N. 14790.
2. Sintsova, O. et al. // J Proteomics. 2018. V. 173. P. 12–21.
3. Sintsova, O. et al. // Mar. Drugs. 2019. V. 17. P. 542-556.

**Мультимиксные исследования аборигенных микроорганизмов
техногенных экосистем**

В.А. Романова, Е.А. Булыгина, М.И. Маркелова, Т.В. Григорьева, А.В. Лайков
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань
электронная почта: avonamora-94@mail.ru

В настоящее время накопление углеводородсодержащих отходов, являющихся неизбежными побочными продуктами предприятий нефтехимической промышленности, является серьезной экологической проблемой. Биоремедиация использует способность микроорганизмов метаболизировать опасные химические вещества с образованием менее токсичных или нетоксичных соединений. Экстремотолерантные бактерии, населяющие экологические ниши, характеризующиеся комплексными неблагоприятными воздействиями, обладают адаптационными механизмами, позволяющими им справляться с экстремальными условиями. Интеграция мультимиксных технологий в экологические исследования, позволила изучать физиологию микроорганизмов-деструкторов на новом уровне, оценивать их метаболические изменения на молекулярном уровне. Объектом исследования являлся углеводородный шлам предприятия органического синтеза Казаньоргсинтез (г. Казань), десять лет хранившийся в шламонакопителе. Для эксперимента отбирались пробы трех разных слоев шлама (нижний, средний и верхний) и проводилось шотган секвенирование с последующей обработкой метагеномных данных.

Для сравнения с исследуемой группой образцов шлама, были отобраны следующие референсы метагеномных данных, находящиеся в открытом доступе базы данных MG-RAST: метагеном луговой почвы – 5 образцов, метагеном активного ила системы очистки промышленных сточных вод – 3 образца, метагеном ила системы биологического удаления фосфора – 3 образца, метагеном микробных матов из гиперсоленых условий – 5 образцов, метагеном биопленок кислых шахтных вод – 2 образца, метагеном пресной воды – 4 образца, метагеном морской воды – 5 образцов, метагеном сверхсоленой воды – 5 образцов.

Результаты сравнительного анализа с визуализацией по методу главных компонент показали, что не во всех случаях наблюдается кластеризация образцов внутри одного объекта. Образцы почвенных метагеномов сгруппированы вместе, так же, как и образцы метагеномов исследуемых шламов, в то время, как образцы метагеномов биопленок имеют более рассредоточенное распределение. Кластеризация между проектами показала, что исследуемые шламы по разнообразию находятся ближе к образцам почвы и осадкам сточных вод, но дальше от образцов гиперсоленых и морских вод. Помимо этого, данные о функциональных генах, присутствующих в разных типах образцов позволяют сделать вывод, что у сообществ образцов шламов и почвы некоторые функциональные гены более представлены, по сравнению с другими эконисшами. Так, наблюдается повышение группы генов, ответственных за метаболизм ароматических соединений, что может свидетельствовать о более высокой представленности в данном кластере образцов микроорганизмов-деструкторов ароматических и полициклических ароматических соединений.

Таким образом, применение мультимиксных методов позволяет как оценить потенциал, которым обладают отдельные микроорганизмы и их сообщества, так и проверить возможность реализации заложенной генетической программы в различных условиях культивирования.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров (Приоритет-2030) и в рамках выполнения проекта № FZSM-2023-0013 государственного задания КФУ.

**Изучение влияния 2-хлорфаскаплизина
на выживаемость злокачественных клеток лейкозов**

П.В. Спирин^{1,2}, М.Д. Кренгауз^{1,2}, В.О. Ведерникова^{1,2}, О.А. Тряпкин³, П.А. Смирнова³,
М.Е. Жидков³, В.С. Прасолов^{1,2}

¹*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва*

²*Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет),
Долгопрудный*

³*Дальневосточный федеральный университет, Владивосток*

Лейкозы - это группа злокачественных заболеваний крови, возникновение которых связано с аномальной трансформацией гемопоэтической клетки в красном костном мозге. Причиной считают появление мутаций в генах, кодирующих белки, отвечающие за нормальное кроветворение. Это ведёт к синтезу в кроветворных клетках аномальных форм мутантных белков, которые нарушают баланс в регуляции активности сигнальных путей, отвечающих за рост, чувствительность к сигналам апоптоза и дифференцировку. Трансформированные клетки обладают повышенной выживаемостью и увеличенной скоростью пролиферации. Результатом их деления становится появление целого пула лейкозных клеток, который, в конечном итоге, вытесняет нормальные ростки кроветворения. Для лечения лейкозов применяют курсы высокодозной химиотерапии, что не всегда является эффективным и не редко приводит к развитию устойчивых к такой терапии форм лейкозов. Крайне актуальным является введение в лечебную практику новых, более специфичных и безопасных препаратов, поиск и получение которых стоит одной из задач современной биомедицины. Фаскаплизин – природное органическое соединение, выделенное из морских губок рода *Fascaplysinopsis*. По ряду данных, фаскаплизин является потенциальным ингибитором циклин-зависимых киназ CDK-4/6. В ряде моделей злокачественных заболеваний было показано, что он блокирует рост раковых клеток в фазе G1 клеточного цикла. С другой стороны, некоторые из производных фаскаплизина могут выступать в качестве модуляторов активности транскрипционного фактора E2F1, проявлять проапоптотическую активность. Показано также, что они могут с высокой эффективностью связываться с ДНК клетки. Данная работа посвящена исследованию противораковой активности новых оригинальных препаратов, синтезированных на основе пигмента фаскаплизина, выделенного из губки *F. sp.* Для этого на панели клеток лейкозов был проведён скрининг ряда производных данного препарата. В ходе этого была установлена чувствительность клеток лейкозов к данным препаратам и показано, что они проявляют выраженный цитотоксический эффект в отношении злокачественных клеток. Показано, что некоторые из галогенпроизводных фаскаплизина вызывают существенное замедление прохождения G2 фазы клеточного цикла. Также было установлено, что обработка клеток исследуемыми препаратами приводит к индукции апоптоза. Также было показано, что обработка клеток препаратами производных фаскаплизина приводит к существенному изменению экспрессии генов, кодирующих белки, вовлечённые в злокачественное перерождение. Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что эти препараты могут быть перспективны для борьбы с лейкозами.

Исследование поддержано грантом РНФ № 21-14-00355 и грантом РФФИ № 20-54-76005.

Ссылки:

1. Spirin P. et al. // Mar. Drugs. 2021. V. 19, N 9. P. 489.
2. Zhidkov M. et al. // Mar. Drugs. 2022. V. 20, N 3. P. 185.
3. Tryapkin O. et al. // Mar. Drugs. 2023. V. 21, N 8. P. 424.

Метод молекулярной детекции нового штамма
Dendrolimus sibiricus Cyrovirus -1 в альтернативном хозяине

А.О. Субботина^{1,2}, В.В. Мартемьянов¹, И.А. Белоусова¹

¹Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск

электронная почта: subbotinaanya11@gmail.com

Биологические инсектициды признаны более экологически безопасными для борьбы с насекомыми вредителями в сравнении с химическими. Перспективным кандидатом на роль биологического инсектицида является новый штамм вируса цитоплазматического полиэдроза - *Dendrolimus sibiricus* Cyrovirus -1 (*DsCPV-1*), который недавно был выделен из гусениц сибирского шелкопряда *D. sibiricus* [1]. У данного штамма есть ряд преимуществ перед уже существующими биоинсектицидами.

В качестве кандидата для культивирования и массового производства штамма вируса *in vivo* рассматривается табачный бражник *Manduca sexta* (альтернативный хозяин). Было показано, что заражение *DsCPV-1* инициирует патогенез у *M. sexta*, и вирус в инфицированном материале сохраняет свои вирулентные свойства [1]. Однако, при пассаже через альтернативного хозяина наблюдается и ряд отличий по сравнению с пассажем через основного хозяина. В частности, наблюдается снижение количества и размеров тел-включений (полиэдров), которые в норме формирует циповирус. Полиэдры имеют достаточно большие размеры и могут быть визуализированы в световой микроскоп [2], поэтому отсутствие полиэдров в тканях делает невозможным определение наличия размножения вируса в табачном бражнике. Следовательно, необходимо показать с помощью других методов наличие вирусной репликации в альтернативном хозяине.

В данной работе мы разработали метод, в основе которого лежит ПЦР в режиме реального времени с обратной транскрипцией, который способен детектировать относительное количество дцРНК *DsCPV-1* в ткани среднего кишечника *M. sexta*. Мы подобрали две пары праймеров для двух участков РНК *DsCPV-1*: для некодирующего участка гена полиэдрина и для некодирующего участка гена полимеразы. Для нормировки копий РНК циповируса на РНК бражника мы использовали праймеры на ген рибосомного белка S3 *M. sexta* 40S субъединицы [3]. Была измерена эффективность праймеров и чувствительность метода.

Мы показали, что репликация вирусной дцРНК в ткани среднего кишечника *M. sexta* увеличивается в течение инфекции, а значит данный альтернативный хозяин может использоваться для массового производства вирусного биоинсектицида на основе *DsCPV-1*.

Разработанная и протестированная нами методика молекулярной детекции нового штамма *DsCPV-1* в альтернативном хозяине может быть полезна для: определения динамики увеличения количества *DsCPV-1* в *M. sexta* при культивировании вируса, детекции наличия скрытой инфекции, изучения механизмов патологических процессов *DsCPV-1* с целью улучшения патологических свойств штамма.

Исследование поддержано РФФ № 21-46-07005.

Ссылки:

1. Martemyanov V. V. et al. // Microbiology Spectrum. 2023. P. e03855-22.
2. Belloncik S. et al. // The insect viruses. 1998. P. 337-369.
3. Rao X. J. et al. // Insect biochemistry and molecular biology. 2014. V. 52. P. 13-22.

**Исследование и оптимизация промоторных последовательностей
в дрожжах *Yarrowia lipolytica* для создания штаммов-продуцентов**

А. В. Черенкова¹, О. Е. Мелькина²

¹Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва

²Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

электронная почта: oligamelkina@gmail.com

В метаболической инженерии дрожжевых штаммов-продуцентов промоторы являются ключевыми элементами, что делает их одним из важнейших параметров для исследования и оптимизации. Будучи неконвенциональными продуцентами разнообразных продуктов промышленной биотехнологии, дрожжи *Yarrowia lipolytica* выступают в качестве перспективных объектов метаболической инженерии. Потенциальным источником дрожжевых промоторов с сильной конститутивной экспрессией выступают гены, кодирующие белки рибосом. Исследования на *Saccharomyces cerevisiae* показали, что 50 % транскрипции РНК-полимеразы II связано с пулом генов рибосомальных белков [1, 2].

В настоящей работе проведен скрининг эндогенных рибосомальных промоторов *Y. lipolytica*. Используя в качестве белка-репортера зеленый флуоресцентный белок, измерена сила 64 промоторов рибосомальных генов, кодирующих большие и малые субъединицы рибосом *Y. lipolytica*. Показано, что силы этих промоторов значительно различаются по средней интенсивности флуоресценции GFP, при этом сила хорошо охарактеризованного промотора TEF1 была принята за 100 %. Было показано, что в экспоненциальной фазе роста при выращивании как в богатой, так и в минимальной питательной среде из 64 неохарактеризованных промоторов рибосомальных белков только промотор RPL25 демонстрирует уровень экспрессии, превышающий уровень сильного промотора TEF1 [1].

Таким образом, рибосомальный промотор RPL25 был признан перспективным объектом для дальнейшего исследования и оптимизации. Была создана библиотека рандомизированных последовательностей промотора RPL25 с шагом в 100 нуклеотидов. Полученные более короткие дериваты обладали различной силой экспрессии. Показано, что среди исследованных дериватов промотора RPL25 минимальная функциональная длина составляет 199 п.н., а оптимальная функциональная длина - 497 п.н.

Исследованные рибосомальные промоторы, а также полученные дериваты промотора RPL25 можно подвергать дальнейшей оптимизации и использовать при конструировании штаммов-продуцентов *Y. lipolytica* с требуемым уровнем генетической экспрессии генов.

Работа финансировалась в рамках Тематического плана Государственного задания НИЦ «Курчатовский институт» и соглашения с Минобрнауки № 075-15-2019-1659.

Ссылки:

1. Keren L. et al. // Molecular systems biology. 2013. V. 9, N 701.
2. Warner J.R. // Trends in biochemical sciences. 1999. V. 24. P. 437–440.

**Гены утилизации нитрилов в бактериях *Rhodococcus* –
применение в промышленном биокатализе**

А.О. Шемякина, Е.Г. Гречишникова, А.Д. Новиков, К.В. Лавров, А.С. Яненко
Геномный центр ККГИ НИЦ «Курчатовский институт», Москва
электронная почта: lavrov.ko@gmail.com

Токсичные органические нитрилы, как природные [1], так и антропогенные (пестициды) широко распространены в окружающей среде, и их детоксификация является необходимой для биосистем. Микроорганизмы, основные детоксификаторы нитрилов, способны утилизировать их с помощью ферментов нитрилгидратазно-амидазной системы (NH/AM), или с помощью нитрилазы [2, 3]. Интересной особенностью кобальт-зависимой экспрессии генов NH/AM у бактерий *Rhodococcus* являются быстрая индукция в присутствии нитрилов и очень высокий уровень синтеза ферментов NH/AM (до 50% растворимых внутриклеточных белков) [4].

Элементы регуляции экспрессии нитрилгидратазы (промотор P_{nh} , ген-помощник *nhmG*, ген кобальт-зависимого репрессора транскрипции промотора P_{nh}) были использованы для конструирования бактериальных биокатализаторов, способных синтезировать акриловые мономеры – акриловую кислоту, акриламид, а также его N-замещенные производные. На базе бактерий *Rhodococcus rhodochrous* разработаны штаммы, супер-экспрессирующие ферменты, необходимые для соответствующих процессов синтеза, а именно нитрилазу [5], нитрилгидратазу [6], и разные виды амидаз [7, 8]. На базе полученных штаммов разработаны процессы промышленного уровня для получения упомянутых мономеров с получением концентрированных водных растворов (30–50%). Также, сконструированы штаммы *Rhodococcus*, где под контролем P_{nh} находятся гены зелёного и красного флуоресцентных белков turboGFP и turboRFP. Флуоресцентная светимость клеток этих штаммов усиливается в присутствии в среде индукторов экспрессии – амидов и нитрилов. Это свойство штаммов может быть использовано для индикации присутствия таких соединений в природных средах, находящихся под антропогенным воздействием – почвах, сточных водах, илах.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Тематического плана НИЦ «Курчатовский институт».

Ссылки:

1. Fleming F.F. // Natural Product Reports. 1999. V. 16. P. 597-606.
2. Yanenko A.S. et al. // Enzyme Catalysis in Organic Synthesis. 2012. P. 531-544.
3. Obwald S. et al. // Enzyme Catalysis in Organic Synthesis. 2012. P. 545-559.
4. Lavrov K.V. et al. // Metallomics. 2019. V. 11. P. 1162.
5. Lavrov K.V. et al. // Applied biochemistry and microbiology. 2019. V. 55. P. 861-869.
6. Leonova T. E. et al. // Applied biochemistry and biotechnology. 2000. V. 88. P. 231-241.
7. Lavrov K.V. et al. // Russian journal of genetics. 2014. V. 50, N. 10. P. 1009–1016.
8. Lavrov K.V. et al. // Russian journal of genetics. 2013. V. 49. N. 10. P. 1078–1081.

**Взаимное влияние модификаций генов биосинтеза и транспорта L-валина
у *Corynebacterium glutamicum* на экспрессию данных генов**

М.Е. Шереметьева, К.Э. Ануфриев, В.В. Розанцева, Т.И. Калинина, А.С. Яненко
Геномный центр ККГИ НИЦ «Курчатовский институт», Москва
электронная почта: m.e.sheremetieva@gmail.com

L-валин (далее – валин) – важное природное соединение, незаменимая протеиногенная аминокислота (АК) из группы АК с разветвлённой боковой цепью (ВСАА), широко применяемая в животноводстве в качестве кормовой добавки. Потребление валина постоянно растёт, что делает актуальной задачу увеличения производства данной АК. В настоящее время основной способ получения валина – биотехнологический, с использованием микроорганизмов-продуцентов. Один из наиболее распространённых базовых микроорганизмов для создания продуцентов АК – почвенная бактерия *Corynebacterium glutamicum*, безопасная для человека и животных, неприхотливая и генетически стабильная [1]. Представленное исследование посвящено изучению взаимного влияния биосинтеза и транспорта валина у *C. glutamicum* для дальнейшего использования полученной информации при разработке штамма-продуцента.

Ранее на основе штамма дикого типа *C. glutamicum* ATCC 13869 мы сконструировали штамм, продуцирующий до 24 г/л валина. Такой уровень продукции был достигнут благодаря модификациям, затрагивающим оперон *ilvBN*, кодирующий первый фермент биосинтеза валина, ген *ilvA*, кодирующий первый фермент биосинтеза L-изолейцина (процесса, конкурирующего с биосинтезом L-валина за субстраты и ферменты), и оперон *brnFE*, кодирующие систему экспорта ВСАА [2].

Чтобы продолжить изучение того, как влияют на продукцию валина модификации систем транспорта ВСАА, на базе *C. glutamicum* ATCC 13869 мы получили серию штаммов с модифицированным промотором оперона *brnFE* [3] и с инактивированным геном *brnQ*, кодирующим импортёр ВСАА, в различном генетическом окружении. Эти модификации не только благоприятно сказались на продуктивности штаммов, но и привели к увеличению экспрессии оперона *ilvBN*. В свою очередь, увеличение экспрессии оперона *ilvBN* за счёт модификации его регуляторной области [4] также привело не только к увеличению продукции валина, но и к повышению экспрессии оперона *brnFE*.

По данным литературы, экспрессия и *ilvBN*, и *brnFE* у *C. glutamicum* зависит от присутствия ВСАА, причём в первом случае происходит подавление, а во втором – усиление экспрессии [1]. Наши результаты подтверждают, что при активации *ilvBN* внутриклеточная концентрация валина увеличивается (поскольку увеличивается экспрессия *brnFE*), а при активации *brnFE* и/или инактивации *brnQ* – уменьшается (поскольку увеличивается экспрессия *ilvBN*). С точки зрения продуктивности наилучший эффект продемонстрирован для штамма *C. glutamicum*, в котором объединены все три модификации (уровень продукции валина до 28 г/л).

Исследование выполнено при финансовой поддержке Тематического плана НИЦ «Курчатовский институт».

Ссылки:

1. Шереметьева М. Е. и др. // ВЖГиС. 2022. В. 26, №8. С. 743–757.
2. Ануфриев К. Э. и др. // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты. 2022. В. 14. С. 24-40.
3. Tan S. et al. // ACS Synth. Biol. 2020. V. 9, N. 9. P. 2378–2389.
4. Рябченко Л. Е. и др. // Патент RU 2 753 996 С1, публикация: 25.08.2021.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ: ПРИРОДНЫЕ БИОАКТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

Генетические основы серологических различий грамотрицательных бактерий

Г.Л. Бурьгин^{1,2,3}

¹Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН», Саратов

²Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

³ФГБОУ ВО Вавиловский университет, Саратов

электронная почта: buryingl@gmail.com

Основные антигены поверхности клеток грамотрицательных бактерий ассоциированы со жгутиком (H-антиген), липополисахаридом наружной мембраны (O-антиген) и капсульными полисахаридами (K-антиген). В строении каждой из этих групп макромолекул имеются консервативные мотивы, узнаваемые иммунными системами животных и растений, что и определяет высокую иммуногенность именно этих поверхностных биополимеров. В биосинтез каждого антигена вовлечено большое количество генов, нарушение функционирования продуктов любого из них приводит к утрате клеткой соответствующего антигена. В свою очередь, эволюционные механизмы бактерий направлены на присутствие и высокую вариабельность структур антигенов.

Изменчивость жгутикового антигена связана с высокой вариабельностью аминокислотных последовательностей белков филамента (флагеллинов). Основным механизмом изменчивости аминокислотного состава являются точечные мутации, поддержанные естественным отбором в средней части белка, не принимающей участие в белок-белковых взаимодействиях формировании жгутика. Специфичность O-антигена определяется структурой повторяющихся олигосахаридных звеньев O-полисахаридов, в биосинтез которых вовлечены гены гликозилтрансфераз, процессинга и при необходимости ещё и гены биосинтеза нуклеозид-активированных моносахаридов. При этом переход от одной олигосахаридной структуры в антигене к другой должен сопровождаться согласованными изменениями специфичности гликозилтрансфераз и белков процессинга.

Анализ распространенности описанных в литературе генных кластеров биосинтеза O-антигена (ГКО) среди бактерий рода *Enterobacter*, геномы которых депонированы в GenBank, показал присутствие 23-х ГКО *Enterobacter cloacae* в неизменном виде в геномах штаммов разных видов. Это свидетельствует о высокой активности горизонтального переноса ГКО по механизмам конъюгации среди близкородственных штаммов энтеробактерий. В ГКО альфа-протеобактерий часто присутствуют гены, не вовлеченные в биосинтез O-антигена, в том числе и гены профагов. Это может говорить о значительной роли трансдукции в формировании изменчивости O-полисахаридов в этой группе бактерий. Кроме того, активность генов профагов может приводить к нестехиометрическим модификациям O-полисахаридов, меняющих их антигенность. Подобные изменения структуры гликанов приводят к появлению новых физико-химических свойств поверхности бактериальных клеток и, как следствие, влияют на активность взаимодействия бактерий с объектами окружающей среды, в том числе с клетками животных и растений.

Таким образом, в разных группах грамотрицательных бактерий преобладают различные механизмы поддержания высокой вариабельности антигенных структур на поверхности клеток.

Исследование поддержано грантом РНФ № 22-26-00293.

Поликетиды из природного комплекса морских грибов
Penicillium sajarovii КММ 4718 и *Aspergillus protuberus* КММ 4747,
ассоциированных с морским плоским ежом *Scaphechinus mirabilis*

Г.В. Боркунов^{1,2}, Е.А. Юрченко¹, В.Е. Чаусова¹, Н.Н. Киричук¹, Е.В. Лещенко^{1,2}

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

электронная почта: gborkunov@gmail.com

Известно, что грибы рода *Penicillium* и *Aspergillus* являются одними из самых распространённых микроорганизмов на земле [1]. В нашем исследовании по поиску продуцентов новых биологически активных веществ мы исследовали природный комплекс двух грибных штаммов *Penicillium sajarovii* КММ 4718 и *Aspergillus protuberus* КММ 4747, выделенных с аборальной поверхности плоского морского ежа *Scaphechinus mirabilis*, собранного в бухте Троица (зал. Посъет, Японское море). Штаммы этих морских грибов, образующие природный комплекс, были идентифицированы с помощью трех молекулярно-генетических маркеров: регионов ITS, фрагментов генов бета-тубулинов и кальмодулинов, а также фрагмента большой субъединицы РНК-полимеразы II только для штамма КММ 4747. Совместное культивирование двух или более микроорганизмов является одним из направлений стратегии OSMAC, согласно которой каждый микробный штамм может продуцировать большое разнообразие соединений при культивировании в различных условиях. В результате разделения этилацетатного экстракта грибной сокультуры различными хроматографическими методами были выделены два новых поликетиды саярокетид А (**1**) и саярокетид В (**2**), а также известные 7-гидрокси-2-(2-гидроксипропил)-5-метилхромон (**3**), альтехромон А (**4**), норлихексантон (**5**), гризеоксантон С (**6**), 1,3,5,6-тетрагидрокси-8-метилксантон (**7**), гризеофульвин (**8**), 6-О-деметил-гризеофульвин (**9**), дехлоргризеофульвин (**10**) и 5,6-дигидро-4-метил-2Н-пиранон-2 (**11**) (рисунок 1).

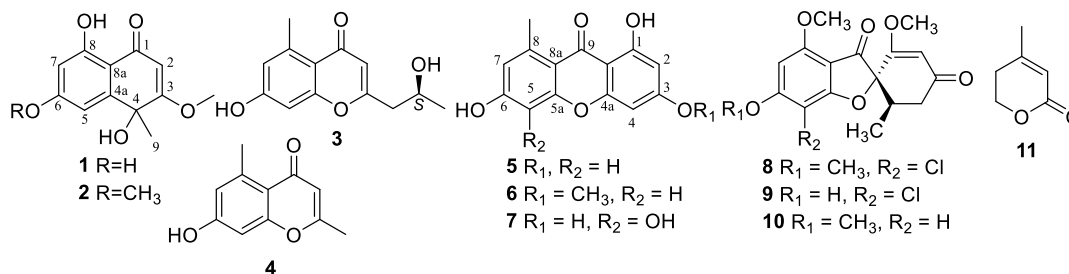


Рисунок 1 – Структуры некоторых выделенных соединений

Химические структуры выделенных соединений **1–11** были установлены при помощи одно- и двумерной ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения с ионизацией электрораспылением. Была исследована цитотоксическая и антимикробная активность выделенных соединений, а также их влияние на активность фермента уреазы. Все соединения были нетоксичны или слаботоксичны для клеток гепатокарциномы HepG2 и кардиомиоцитов H9c2. Вещества **5**, **8** и **11** ингибировали активность фермента уреазы на 50% при концентрации 15.3, 10.1 и 11.4 мкМ соответственно. Соединения **5** и **8** также оказывали умеренное влияние на рост тест-культур *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans*.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075–15-2021-1052.

Ссылки:

1. Hawksworth D.L. et al. // Microbiology spectrum. 2017. V. 5, N. 4.

**Новые ингибиторы гистон деацетилаз первого класса
для подавления роста клеток лимфомы**

В.О Ведерникова^{1,2}, А.С. Земская¹, М.В. Козлов¹, П.В. Спириин^{1,2}, В.С. Прасолов¹

¹*Институт молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта РАН, Москва*

²*Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный*

электронная почта: vedernikova.vo@phystech.edu

Эпигенетические механизмы регуляции экспрессии генов играют ключевую роль в контроле биологических процессов. К числу таких механизмов относят регуляцию ацетилирования и деацетилирования гистонов, которая осуществляется при участии ацетилтрансфераз гистонов (HATs) и деацетилаз гистонов (HDACs). Известно, что различные нарушения регуляции ацетилирования гистонов связаны с развитием ряда злокачественных заболеваний, в частности, лимфом.

Деацетилазы гистонов рассматривают в качестве перспективных терапевтических мишеней для лечения рака, и поэтому ингибиторы HDACs были выделены в новую категорию противораковых препаратов. На сегодняшний день одним из одобренных ингибиторов деацетилаз гистонов, применяющихся в качестве противоракового препарата, является белиностат.

В нашей работе было проведено исследование биологических эффектов новых оригинальных производных белиностата, которые могут обладать повышенной селективностью в отношении HDACs первого класса.

Было установлено, что, в сравнении с белиностатом, один из исследуемых препаратов обладает большей селективностью в отношении HDACs первого класса. Кроме того, показано, что они оказывают выраженное цитотоксическое действие на клетки с относительно более высоким уровнем экспрессии деацетилаз гистонов первого класса. При этом цитотоксический эффект в значительной мере был связан с индукцией апоптоза. Показано, что обработка клеток исследуемыми препаратами приводит к изменению экспрессии генов, кодирующих белки, вовлечённые в регуляцию апоптоза и клеточного цикла.

Таким образом, показано, что новые производные белиностата, специфичные в отношении HDACs первого класса, могут являться перспективными противораковыми препаратами, а данная работа может представлять интерес в контексте поиска новых подходов к борьбе со злокачественными заболеваниями, в частности, с лимфомами.

Исследование поддержано грантом РФФ № 21-14-00355.

De Novo дизайн потенциальных ингибиторов ВИЧ-1

Д.А. Воробьев, А.Д. Карпенко

Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси, Минск, Беларусь
электронная почта: daniel.vorobiov.2002@yandex.ru

На сегодняшний день задача поиска новых лекарственных препаратов является крайне востребованной и важной проблемой для общества. В то же время, использование генеративных нейронных сетей дает возможность получить соединения, которые отсутствуют в уже существующих базах данных химических соединений, но которые будут более эффективны в задачах ингибирования заданной молекулярной мишени, чем известные в настоящее время лекарственные препараты.

В данной работе с помощью следующих методов виртуального скрининга: фармакофорное моделирование и фармакофорный поиск (программа Pharmit; <https://pharmit.csb.pitt.edu>), а также молекулярного докинга (программа AutoDock Vina; <https://vina.scripps.edu>), на основе ингибитора NBD-14204 в комплексе с белком GP120 HIV-1 (PDB ID: 8F9Z) [1], была сформирована обучающая выборка на 94661 низкомолекулярное соединение, для обучения модели LSTM автоэнкодера [2]. С помощью этой модели было сгенерировано 46846 новых соединений в виде линейных представлений молекул SMILES. Данные представления были очищены от дубликатов, проверены на валидность и интерпретируемость с помощью модуля RDKit (<http://www.rdkit.org/>) и преобразованы из представлений SMILES в химические 2D и 3D структуры молекул (Рисунок 1), из которых методом молекулярного докинга для случайной выборки из 7023 соединений была оценена эффективность энергии связывания [3] по отношению к белку-мишени GP120. По результатам проведенных исследований 527 показали энергию связывания не хуже, чем у эталонного ингибитора NBD-14204 (-8.3 kcal/mol).

Для 100 лучших по энергии связывания соединений была оценена водная растворимость, синтезируемость и токсичность при использовании программы SwissADME (<http://swissadme.ch>). По результатам проверки в SWISSADME 84 соединения могут являться потенциальными ингибиторами GP120 HIV-1.

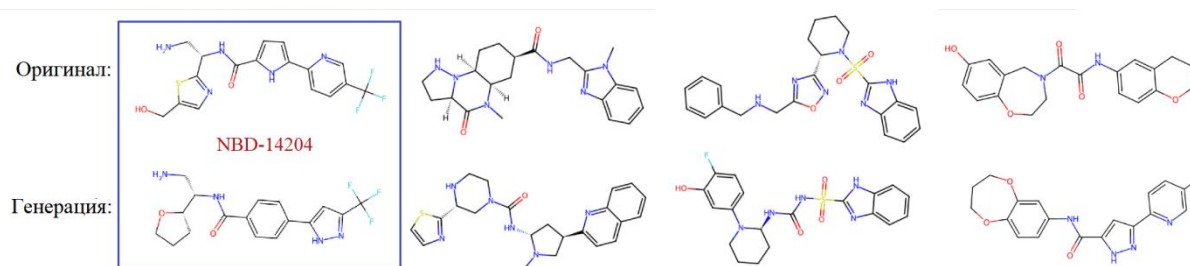


Рисунок 1 – Пример сгенерированных соединений

В дальнейших исследованиях планируется оценка эффективности связывания сгенерированных соединений методами молекулярной динамики.

Ссылки:

1. Curreli F. et al. // Int J Mol Sci. 2022. V. 23, N. 24. P. 15999.
2. Shuldau M.A. et al. // PRIP'2021. 2021. Minsk, Belarus.
3. Luo Yu-Ran et al. // In Lide, David R. (ed.) 2017. CRC Handbook of Chemistry and Physics, 97th edition (2016–2017). Boca Raton: Taylor & Francis Group. P. 9-73.

Деградация сырой нефти в воде биоорганическими композициями
на основе гуминовых кислот

М.М. Герцен, Л.В. Переломов

Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого, Тула

электронная почта: mani.gertsen@gmail.com

Попадание нефти в окружающую среду является основной причиной масштабного загрязнения водных и почвенных экосистем [1]. Совместное применение химических и микробиологических методов для устранения нефтяных загрязнений является перспективным, при одновременном использовании диспергентов и нефтеокисляющих бактерий, способных ассимилировать углеводороды нефти. В качестве диспергентов актуально применение гуминовых кислот (ГК), широко распространенных и доступных органических компонентов различных природных сред. Целью работы является изучение влияния биоорганических композиций на основе бактерий рода *Rhodococcus* и *Pseudomonas* совместно с гуминовыми кислотами на эмульгирование и деградацию сырой нефти в воде. Объекты исследования – ГК тростникового низинного торфа Рязанской области. Бактерии-нефтедеструкторы *Rhodococcus erythropolis* S67, *Rhodococcus erythropolis* X5, *Pseudomonas fluorescens* 142NF предоставлены лабораторией биологии плазмид Института биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрыбина РАН Пущино и Всероссийской коллекцией микроорганизмов [2].

Первичная оценка эмульгирующей способности композиций устанавливалась по индексу эмульгирования [3]. Определено, что суспензии анализируемых биоорганических композиций способны эмульгировать сырую нефть: значения индексов эмульгирования составили от 71 ± 2 % до 94 ± 2 %. При оценке состояния пленок сырой нефти в условиях действия разработанных композиций *in vitro* были получены следующие изображения (рисунок 1), на которых прослеживается изменение в распределении токсиканта по поверхности воды: применение биоорганических композиций на основе ГК и бактерий существенно влияло на эмульгирование сырой нефти. Причем визуальный деградирующий эффект биоорганических композиций уменьшается в ряду: «ГК + *Pseudomonas fluorescens* 142NF» > «ГК + *Rhodococcus* S67», «ГК + *Rhodococcus* X5», что согласуется со значениями индексов эмульгирования.

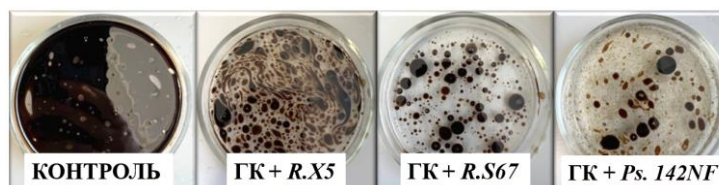


Рисунок 1 – Распределение сырой нефти на поверхности биоорганических композиций

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме: «Иммобилизация тяжелых металлов продуктами взаимодействий слоистых силикатов с почвенным органическим веществом и микроорганизмами» (Средства дополнительного соглашения № 073-03-2023-030/2 от 14.02.2023 к Соглашению о предоставлении субсидии из федерального бюджета на финансовое обеспечение выполнения государственного задания на оказание государственных услуг (выполнение работ) 073-00030-23-02 от 13.02.23).

Ссылки:

1. Ngene S. et al // Journal of Sustainable Development of Energy, Water and Environment Systems. 2021. V. 9, N. 4. P. 1-14.
2. Ветрова А.А. и др. // Известия ТулГУ. Естественные науки. 2013. №. 2, Ч. 1. С. 241-257.
3. Cooper D.G. et al. // Applied and environmental microbiology. 1987. V. 53, N. 2. P. 224-229.

Пептиды морских анемон, модулирующие активность кислоточувствительных ионных каналов: структурное разнообразие и биологическая активность

И.Н. Гладких¹, Р.С. Калина¹, А.А. Климович¹, М.М. Монастырская¹, М.П. Исаева¹, С.А. Козлов²,
Е.В. Лейченко¹

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

²Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
РАН, Москва

электронная почта: irinagladkikh@gmail.com

Достоверно установлено, что изменение кислотно-щелочного равновесия в тканях организма детектируется кислоточувствительными ионными каналами (Acid-Sensing Ion Channels, ASICs), мембранными белками, обладающими важной сенсорной и регуляторной функцией. Интенсивно экспрессирующиеся в центральной и периферической нервной системах, ASICs участвуют в передаче ноцицептивных сигналов, связанных с локальным изменением pH (изоформы ASIC1a, ASIC1b- и ASIC3-содержащие каналы) в норме и при патологии; задействованы в синаптической передаче при нормальной нейрональной активности, в механо- и хеморецепции (ASIC3 и ASIC1b). Их ненормальное функционирование отмечено при развитии нейродегенеративных заболеваний (эпилепсия, рассеянный склероз, болезни Паркинсона и Хантингтона, психические расстройства, развитие состояний тревоги и страха).

Яды древних кишечнорастворимых, морских анемон, являются ценным источником пептидных молекул, способных специфично модулировать различные типы ионных каналов, в том числе, ASIC. Комплексное изучение пептидных токсинов структурного семейства 1b (APETx-подобные пептиды) из морской анемоны *Heteractis crispa* (= *Heteractis magnifica*) показало, что пептиды существуют в организме-производителе в виде комбинаторной библиотеки и кодируются мультигенным семейством. Данные пептиды оказались модуляторами не только ASIC3 и ASIC1a каналов крысы и человека, но и лигандами ацетилхолиновых рецепторов, $\alpha 1\beta 1\gamma\delta$ мышечного типа из *Torpedo californica* и $\alpha 7$ подтипа человека. Кроме того, один из пептидов продемонстрировал исключительную избирательность: он в определенной степени активировал или ингибировал 26 потенциалзависимых катионных каналов. Исследование *in vivo* двух пептидов с разными эффектами в отношении ASIC3 каналов показало, что оба пептида проявляют анальгетическую активность сравнимую с активностью диклофенака, но степень их противовоспалительной активности отличалась. При этом оба пептида нетоксичны, стимулируют исследовательскую активность мышей и обладают анксиолитической активностью. Пептиды из *H. magnifica* могут быть использованы в качестве молекулярных инструментов для функциональной характеристики разных ионных каналов и рецепторов, а также в качестве основы для создания новых анальгетических препаратов.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 22-24-00912.

**Исследование противовирусной активности новых
нуклеозидных ингибиторов ВИЧ-1 с помощью безопасной
модульной системы на основе лентивирусных частиц**

К.А. Глумакова^{1,2}, Г.А. Иванов¹, В.О. Ведерникова^{1,2}, Т.Д. Лебедев¹, А.А. Зенченко¹,
В.Е. Ословский¹, М.С. Дреничев¹, В.С. Прасолов¹, П.В. Спирин¹

¹*Институт молекулярной биологии им. Энгельгардта РАН, Москва*

²*Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет),
Долгопрудный*

Электронная почта: kglumakova@mail.ru

Нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы являются первым классом препаратов, которые были одобрены для борьбы с ВИЧ-1 и широко используются в составе комбинированной терапии в сочетании с препаратами других классов. Несмотря на прогресс в лечении ВИЧ-1, по-прежнему существует необходимость в разработке новых эффективных противовирусных препаратов.

Нами была оценена эффективность ингибирования ВИЧ-1 рядом 5-замещенных уридиннуклеозидов, противовирусное действие которых ранее не было изучено. Для исследования ингибирующей активности препаратов мы использовали репликационно-неактивные лентивирусные частицы на основе вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-1). Было показано, что среди всех изученных соединений, только 2',3'-изопропилиден-5-йодуридин обладает ингибирующей активностью против ВИЧ-1. Также важно отметить, что данный препарат не оказывает токсического действия на клеточные линии Т-клеточного происхождения. Показано, что данное соединение значительно более эффективно ингибирует ВИЧ-1 по сравнению с азидотимидином (АЗТ) в диапазоне высоких, но нетоксичных концентраций.

Также была исследована противовирусная активность 2',3'-изопропилиден-5-йодуридина в комбинации с другими соединениями. Мы не обнаружили синергетического эффекта при использовании АЗТ в сочетании с 2',3'-изопропилиден-5-йодуридином. При этом было показано, что в сочетании с ингибитором CDK4/6 палбоциклибом, использованным в области низких нетоксичных концентраций, 2',3'-изопропилиден-5-йодуридин синергически подавляет ВИЧ-1. Необходимо отметить, что данный препарат представляет интерес в качестве нового перспективного нетоксичного соединения, которое может быть использовано в составе ингибирующей терапии против ВИЧ-1.

Исследование поддержано грантом РНФ № 21-14-00355 и грантом РФФИ № 20-54-76005.

**Исследование функциональной активности никотиновых ацетилхолиновых рецепторов
на первичных клеточных линиях глиобластомы**

Е.А. Гондаренко, Д.В. Мазур

*Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
Москва*

Никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (nAChR) являются одними из наиболее широко представленных типов лиганд-управляемых каналов в центральной нервной системе (ЦНС). Они экспрессированы как на нейронах, так и на клетках глии. В литературе имеются обширные данные об участии nAChR в развитии патологий, в частности, злокачественных опухолей. Среди раковых заболеваний, в патогенезе которых могут играть важную роль nAChR, выделяется мультиформная глиобластома (ГБМ). ГБМ является самым распространенным видом первичных астроцитом. Активация некоторых подтипов nAChR может влиять на пролиферацию и инвазию опухоли.

Данное исследование проводили на первичных клеточных линиях глиобластомы человека, которые культивировали на полной среде для выращивания с сывороткой (FBS) и на бессывороточной среде со специфическими факторами роста. В работе рассматривали первичные линии двух подтипов - пронеуронального и более агрессивного мезенхимального. Клетки ГБМ стимулировали агонистами никотиновых ацетилхолиновых рецепторов: ацетилхолином, никотином, эпибатидином, PNU282987 и 6ID. В качестве селективных антагонистов определенных подтипов nAChR использовали аземиопсин, блокирующий nAChR мышечного типа, и два альфа-конотоксина – PnIA [R9, L10], селективный к альфа-7 рецептору, и RgIA, ингибирующий альфа-9 nAChR. Так как данные подтипы nAChR проводимы для ионов кальция, изменение внутриклеточного кальция регистрировали при помощи метода флуоресцентной кальциевой визуализации. Наиболее ярко выраженным результатом стала детекция альфа-7 nAChR на клетках линий ГБМ мезенхимального подтипа только при выращивании их на полной среде с FBS.

Таким образом, профиль экспрессии nAChR на уровне белка различается при культивировании первичных клеточных линий на разных средах для выращивания. Проведенное исследование показало применимость кальциевой визуализации в качестве системы скрининга функциональной активности nAChR на клетках первичных линий глиобластомы.

Исследование поддержано грантом РФФ № 21-74-10092.

**Промышленно ценные грибные целлюбиозодегидрогеназы:
множественность форм**

С.Ю. Горина, Ж.В. Ренфельд, А.М. Черных, М.П. Коломыцева
*Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН
ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино*
электронная почта: mpkolomytseva@yandex.ru; sofya.gorina.1991@mail.ru

Внеклеточная грибная целлюбиозодегидрогеназа (CDH, EC1.1.99.18) является одним из ферментов целлюлолитического ферментного комплекса, непосредственно участвующего в разложении древесины, окисляя целлюбиозу и олигосахариды до δ -лактонов [1]. CDH состоит из двух основных доменов с относительно независимой ферментативной активностью: флаводегидрогеназного домена (DH), связывающего кофактор FAD и участвующего в переносе электрона от молекулы сахара к цитохромсвязывающему гемсодержащему домену (СУТ), в свою очередь осуществляющему последовательный перенос электрона к отдельному ферменту - литической полисахаридмонооксигеназе (LPMO) с последующим восстановлением иона меди активного центра LPMO [2-4]. Благодаря этой способности, CDH может быть использована в электрохимических биосенсорах в качестве универсального биодетекторного элемента, в анодах ферментативных биотопливных элементов и биосуперконденсаторах [5]. Кроме того, CDH находят применения в гидролизе биомассы, переработке целлюлозы и бумаги, в биоремедиации и переработке отходов (например, для солиubilизации и разложения полиакрилата и полиакриламидов), в процессах биотрансформации и биосинтеза ценных соединений из дешевого сырья (например, биосинтеза альдоновых кислот и безлактозных препаратов), а благодаря атимикробному эффекту вследствие образования перекиси водорода иммобилизованную CDH применяют в качестве покрытия медицинских изделий и материалов [4,5].

Выделяют несколько классов CDH - I, II, III и IV [4,5]. CDH классов I и II выделены и охарактеризованы, в то время как CDH классов III и IV еще не исследованы. Согласно предварительному анализу аминокислотных последовательностей CDHIII обладают близкой к CDH класса I и II общей структурой, однако имеют отличия в области субстрат связывающего активного центра, результатом которых может быть изменение функциональной активности ферментов, позволяющее существенно расширить границы их применения вплоть до создания принципиально новых технологий. В ходе настоящей работы был осуществлен широкомасштабный скрининг аскомицетов - продуцентов CDH, близких к аскомицетам с известным геномом, содержащим гены, кодирующие ранее неизученные CDHIII. Впервые были исследованы особенности физиологии продукции CDH отобранными аскомицетами, а также исследована субстратная избирательность продуцируемых CDH. Показано наличие генов CDHIII у отобранных грибов, а также способность этих грибов продуцировать множественные формы CDH, обладающие различной субстратной избирательностью и активностью в отношении к новым субстратам.

Исследование поддержано грантом РФФИ-АНФФ № 21-54-14009 и Фондом поддержки молодых ученых имени Геннадия Комиссарова.

Ссылки:

1. Ayers A.R. et al. // European Journal of Biochemistry. 1978. V. 90. P. 171-181.
2. Wood J.D. et al. // Biochim. Biophys. Acta. 1992. V. 1119. P.90-96.
3. Zámocký M. et al. // Curr. Protein Pept. Sci. 2006. V. 7. P.255-280.
4. Csarman F. et al. // The Enzymes. 2020. V. 47. P. 457-489.
5. Scheiblbrandner S. et al. // Bioelectrochemistry. 2020. V.131. P. 107345.

**Почвенные микроорганизмы – потенциальные продуценты биоактивных веществ
с фунгицидной активностью**

А.Ю. Гуляева

Южный Федеральный Университет, Ростов-на-Дону

электронная почта: *guliaeva@sfedu.ru*

Почвенные микроорганизмы являются продуцентами ценных метаболитов, обладающих широким спектром активности, в том числе противогрибковой [1]. Нерибосомальные пептиды и поликетиды относятся к числу наиболее распространенных и структурно разнообразных вторичных метаболитов, многие из них обладают выраженной антибактериальной и/или антигрибковой активностью [2,3,4]. Данные биологически активные вещества могут оказывать противогрибковое действие в отношении ряда важных патогенов, например, грибов рода *Fusarium* или *Aspergillum*, которые поражают экономически важные сельскохозяйственные культуры.

Целью данной работы стал ПЦР-анализ культуромов спорообразующих микроорганизмов родов *Bacillus*, *Paenibacillus* и актиномицетов, выделенных из чистых и загрязненных почв Ростовской области и Ростова-на-Дону, на наличие генов синтеза вторичных метаболитов с фунгицидной активностью. Для поиска маркеров противогрибковой активности были подобраны пары праймеров на гены, кодирующие следующие биологически активные вещества: фузарицидин (*fusA*), сурфактин (*surfAA*), нистатин (*nys*), натамицин (*nat*).

ПЦР-скрининг показал в совокупности в 60 исследуемых культурах чистых и загрязненных почв наличие гена синтеза сурфактина в 20 образцах, фузарицидина – в 17, нистатина – в 13 и натамицина – в 19. В чистых почвах были наиболее представлены гены натамицина и сурфактина, они были найдены в 12 и 19 образцах из 36 соответственно. В загрязненных почвах наиболее представлены гены фузарицидина и сурфактина, они были найдены в 8 из 23 образцов. Интересно отметить, что в целом представленность биологически активных веществ в загрязненных образцах почвы меньше, чем в чистых. Возможно, это связано с ингибирующим действием тяжелых металлов, которые присутствуют в больших количествах в данных почвах, на способность микроорганизмов продуцировать вторичные метаболиты.

В дальнейшем планируется выделение чистых культур микроорганизмов из наиболее перспективных почвенных культуромов, оценка их антагонистической активности *in vivo* против основных грибковых патогенов растений. Штаммы с наиболее выраженной активностью могут быть использованы для разработки биопрепаратов для сельского хозяйства.

Исследование поддержано государственным заданием № FENW-2023-0008.

Ссылки:

1. Iqbal S. et al. // *Molecules*. 2023. V. 28, N. 3. P. 927.
2. Süssmuth R. D. et al. // *Angewandte Chemie Int. Ed.* 2017. V. 56, N. 14. P. 3770-3821.
3. Te Welscher Y. M. et al. // *Journal of Biol. Chem.* 2008. V. 283, N. 10. P. 6393-6401.
4. Li Y. et al. // *Int. journal of mol. sc.* 2019. V. 20, N. 20. P. 5240.

Природные 10-членные лактоны: продуценты, структурное разнообразие и их биологическая активность

В.Р. Дубовик, А.А. Далинова, А.О. Берестецкий

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург
электронная почта: vdubovik@vizr.spb.ru

10-членные лактоны (ДЧЛ) – большая и разнообразная группа природных поликетидов, продуцентами которых, в основном, выступают микромицеты [1,2]. Несмотря на более чем 60-летнюю историю исследований, до сих пор остается много вопросов, связанных с изучением их биологических свойств и классификацией структурного разнообразия. Проведенный анализ литературных источников позволил нам собрать практически полный список всех описанных на сегодняшний день ДЧЛ, который включает в себя 214 веществ. Данная база позволила нам провести анализ их природных источников, выявить наиболее распространенные структурные типы, оценить степень изученности биологической активности и многое другое. Кроме того, собранная нами информация позволила выявить основные проблемы, препятствующие детальному изучению ДЧЛ.

Во-первых, поиск этих соединений в литературе осложняется их неоднозначной номенклатурой. В соответствии с действующими правилами ИЮПАК лактоны считаются гетероциклическими псевдокетонами, поэтому ТМЛ следует называть производными оксацин-2-она. Однако, с момента описания первого ДЧЛ (1964 г.), правила ИЮПАК неоднократно менялись. В результате, при поиске публикаций, описывающих природные ДЧЛ, часто можно встретить названия “ноненолид” или “нонанолид”, а также “деканолид” [1,2]. С учетом вышеперечисленных проблем номенклатуры, наиболее однозначным для данной группы природных соединений представляется название «10-членный лактон».

Во-вторых, отсутствие или неправильное определение видовой принадлежности организма-продуцента ДЧЛ приводит к тупиковой ситуации при необходимости выделить из природного источника конкретный вторичный метаболит.

В-третьих, слабая изученность биологической активности ДЧЛ усложняет определение взаимосвязи структуры и активности. Биологическую активность более 37% всех описанных 10-членных лактонов оценивали только на один тип активности, в то время как масштабное исследование с привлечением более трех различных биотестов проводилось только для около 25% всех описанных в литературе ДЧЛ.

Несмотря на эти проблемы, прослеживается прогресс в изучении свойств соединений этой интересной группы. В последнее время активно развиваются современные направления исследований ДЧЛ — биосинтез [3], механизмы действия [4,5] и способы практического применения [6].

Таким образом, 10-членные лактоны – группа природных соединений, которая заслуживает более внимательного и тщательного подхода к своему изучению.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-16-00038.

Ссылки:

1. Dräger G. et al. // Nat. prod. rep. 1996. V. 13. P. 365–375.
2. Sun P. et al. Cur. Med. I Chem. 2012. V. 19. P. 3417–3455.
3. Courtial J. et al. Sci. Rep. 2022. V. 12. P. 8155.
4. Dalinova A. et al. Journal of Fungi. 2021. V. 7, N. 10. P. 829.
5. Tyutereva E. et al. // Toxins. 2023. V. 15. P. 234.
6. Dubovik V. et al // Plants. 2020. V. 9, N. 11. P. 1621.

Применение бактериальных культур для получения функционального биогенного металлосодержащего наноматериала

О.А. Журавлева¹, А.Ю. Власова^{1,2}, А.И. Килочек³, Т.А. Воейкова¹

¹Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

²«МИРЭА – РТУ», ИТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва

³Московский политехнический университет, Москва

электронная почта: zhuravlevaolgga@gmail.com

В последние годы наметился курс на развитие и применение конкурентоспособных «зеленых» нанотехнологий, позволяющих создавать материалы не в ущерб окружающей среде и здоровью человека. Среди разнообразия способов получения наноматериалов выделяют биосинтез, основанный на способности биообъектов – микроорганизмов, грибов, растений – восстанавливать ионы металлосодержащих солей до наноразмерных частиц (NPs) различной структуры и морфологии, стабилизированных слоем молекул биологического происхождения. Биообъект определяет состав биослоя, уровень биосовместимости с живыми организмами, свойства и функциональность биогенных NPs [1, 2].

Нами разработана и оптимизирована технология эффективного использования клеток металл-восстанавливающей бактериальной культуры *Shewanella oneidensis* MR-1 для получения NPs различных металлов и их сульфидов – Ag₂S, CdS, ZnS, сравнимых по своим физико-химическим, биологическим и фотокаталитическим характеристикам с абиогенными NPs того же химического состава [3, 4].

В настоящей работе предложен способ бактериального восстановления биогенных NPsAg из водного раствора азотнокислого серебра в объеме культуральной жидкости *S. oneidensis* MR-1. Были получены препаративные формы в виде коллоидных дисперсий и порошкообразных лиофилизированных образцов, содержащих кристаллические NPsAg с размерами 10–15 нм и отрицательным зарядом поверхности (–17 мВ). В составе биослоя NPsAg подтверждено наличие белковых соединений, принадлежащих *S. oneidensis* MR-1.

Представляло практический интерес оценить биоцидную активность как функциональную характеристику обоих видов препаративных форм. Установлена способность биогенного Ag-содержащего наноматериала в виде коллоидных дисперсий значительно подавлять рост тест-культур грам(+) бактерий *Bacillus licheniformis* (B-7360) и *Streptococcus salivarius* (B-5994) с сохранением высокого уровня бактерицидной активности у порошкообразных образцов. Восприимчивыми к действию высококонцентрированных водных суспензий NPsAg (8 мг/мл) также оказались микроскопические плесневые фитопатогенные грибы *Aspergillus niger* (F-1057) и *Cladosporium cucumerinum* (F-1081).

Результаты экспериментов свидетельствуют об антимикробном и фунгицидном потенциале исследуемого Ag-содержащего бионаноматериала, различные препаративные формы которого могут быть использованы для создания биогенных средств защиты растений сельскохозяйственного назначения.

Исследование проведено при поддержке утвержденного Тематического плана НИЦ КИ №35.3.1-вн от 07.10.22. Бактериальные штаммы предоставлены БРЦ ВКПМ.

Ссылки:

1. Gahlawat G. et al. // RSC Adv. 2019. V. 9, N. 23. P. 12944-12967.
2. Alsharif S. M. et al. // Heliyon. 2020. e03943.
3. Voeikova T.A. et al. // Applied Biochemistry and Microbiology. V. 54, N. 8. 2018. P. 800-807.
4. Zhuravliova O.A. et al. // Nanobiotechnology Reports. V. 18, N. 1. 2023. P. 111-117.

**Разработка протоколов выделения и очистки тканевой трансглутаминазы человека
для проведения скрининга ингибиторов и функциональных исследований**

С.Д. Иващенко¹, С.Д. Осипов¹, А.В. Власов^{1,2,3}

¹Центр исследований молекулярных механизмов старения и возрастных заболеваний,
Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет),
Долгопрудный

²Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

³Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), Москва
электронная почта: ivashchenko.sd@phystech.edu

Целиакия - хроническое распространённое по всему миру (встречается у 1% населения) аутоиммунное заболевание, вызывающее повреждение тонкого кишечника при употреблении в пищу глютена - белкового компонента, содержащегося в пшенице, ржи и ячмене, в результате чего нарушается поглощение питательных веществ, что может привести к серьезным осложнениям. Тканевая трансглутаминаза человека (tTG) – белок, который является одним из основных участников молекулярного механизма развития заболевания, который модифицирует белки глютена и презентует их клеткам иммунитета [1]. Всё это делает tTG одной из наиболее перспективных мишеней для разработки лекарств против целиакии. Для исследования взаимодействия химических соединений с tTG необходимо подготовить биохимическую систему с возможностью определения активности белка-мишени.

Тканевая трансглутаминаза обладает двумя зависимыми от внешних условий конформациями: открытой и закрытой, каждая из которых может образовывать димеры, и эти формы белка выполняют различные функции [2]. Именно открытая форма белка, обладающая деаминирующей и переамилирующей активностью, задействована в механизме развития целиакии. В Protein Data Bank были обнаружены четыре структуры, соответствующие открытой форме tTG: PDB ID = 2q3z, 3s3j, 3s3s, 3s3p, в которых белок-мишень связан с различными лигандами [3]. Было установлено, что открытая форма тканевой трансглутаминазы человека обладает высокой подвижностью субъединиц и активного сайта связывания, что подтвердило необходимость получения собственной системы тестирования ингибиторов ввиду сложностей с *in silico* дизайном на моделях, полученных ранее.

Для подготовки биохимической системы была поставлена экспрессия рекомбинантного белка tTG в *E. coli* Rosetta 2 (DE3) в культуральной среде Terrific Broth. Затем клетки с экспрессированным белком были лизированы, после чего проведена никель-аффинная хроматография. В итоге белок был стабилизирован в буфере, содержащем АТФ, а затем сконцентрирован. Разработанные протоколы очистки tTG являются перспективными для получения нужного количества tTG при проведении функциональных исследований.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, № FSMF-2022-0007.

Ссылки:

1. Ailioaie L.M. et al. // Int J Mol Sci. 2022. V. 23, N. 14. P. 7719.
2. Katt W.P. et al. // Med One. 2018. V. 3, N. 6. P. e180011.
3. Pinkas D.M. et al. // PLoS Biol. 2007. V. 5, N. 12. P. e327.

**Поиск генных кластеров, кодирующих биосинтез полисахаридов,
в геномах бактерий рода *Zobellia***

К.В. Исаева^{1,2}, Е.П. Быстрицкая², А.И. Ивашенко¹, О.И. Недашковская², М.С. Кокоулин²,
М.П. Исаева²

¹Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток

²Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

Бактериальные полисахариды как природные соединения привлекают к себе внимание тем, что являются потенциальной основой для создания разного рода функциональных материалов и лекарственных субстанций. Они обладают такими важными свойствами, как иммуномодулирующая и антимикробная активность, антибиопленочное и цитостатическое действие, биоразлагаемость. Бактериальные полисахариды охарактеризованы, главным образом, для наземных бактерий. Среди морских бактерий наиболее хорошо изученными продуцентами являются виды родов *Pseudoalteromonas*, *Alteromonas* и *Vibrio* [1]. Следовательно, интерес представляет изучение морских полисахаридов других таксономически удаленных групп, например представителей филума *Bacteroidota*. Ранее методами сравнительной геномики были проанализированы 12 геномов бактерий рода *Zobellia* (семейство *Flavobacteriaceae*, класс *Flavobacteriia*). Установлено, что на долю каждого генома приходится более 6% генов, кодирующих углевод-активные ферменты (CAZome) [2]. Поскольку эти бактерии в основном ассоциированы с различными морскими водорослями, наличие бактериальной капсулы и продукция экзополисахарида способствуют их выживанию и процветанию в соответствующих экологических нишах. Целью данного исследования был поиск генных кластеров, кодирующих биосинтез полисахаридов в геномах бактерий рода *Zobellia*, в частности в новом штамме *Zobellia* sp. 3Alg 48. Последовательность генома была получена с использованием прибора MiSeq (Illumina, США) и сборка прочтений в контиги с помощью SPAdes 3.15.3. Аннотация выполнена на серверах RAST и egNOGG. Предсказание генных кластеров осуществлялось с помощью antiSMASH 6.0. и BLASTX-поиска. В качестве референсного гена был использован ген тирозин-киназы *Bacteroides fragilis*. Показано участие этого фермента (EC 2.7.10.2) в синтезе капсулярного полисахарида (КПС), а также присутствие гена *wzc* в составе биосинтетического геномного кластера КПС. Обнаружено от 2 (*Z. uliginosa*) до 5 (*Z. nedashkovskaya*) геномных локусов *wzc*, в окружении которых находятся гены гликозилгидролаз, ацетилтрансфераз, флиппаз и др. Таким образом, проведенный *in silico* анализ 13 геномов бактерий рода *Zobellia* обнаружил присутствие генов, предположительно отвечающих за биосинтез липо-, экзо- и капсулярного полисахаридов. Следовательно, полисахариды бактерий рода *Zobellia* являются перспективным объектом для изучения их строения и биологической активности.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075–15-2021-1052.

Ссылки:

Besednova N.N., et al. // Antibiotics and Chemotherapy. 2018. N. 63. P. 67-78.
Chernysheva N., et al. // Molecules. 2021. N.26. P. 2387.

Влияние фазы вегетации на синтез экистероидов растений рода *Serratula* L.

Д.И. Казанцева

Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск
электронная почта: da46611@gmail.com

Растения рода *Serratula* L. привлекают внимание исследователей как источник экистероидов – биоактивных соединений с разнообразными фармакологическими свойствами [1,2]. Исследование сезонной динамики накопления экистероидов в этих растениях играет важную роль в определении оптимального времени сбора растительного сырья для получения максимального содержания этих биоактивных соединений. Выявление времени наибольшего синтеза экистероидов также позволяет понять экспрессию генов, ответственных за этот процесс, что делает исследование еще более значимым для понимания биосинтеза и регуляции этих ценных соединений в растениях рода *Serratula*.

Исследование сезонной динамики накопления экистероидов у интродуцированных видов *S. gmelinii* Tausch, *S. manshurica* Kitag. и *S. cupuliformis* Nakai & Kitag было проведено в лаборатории фитохимии Сибирского ботанического сада ТГУ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

В растениях *S. manshurica* было выявлено, что наивысшее суммарное содержание фитоэкистероидов наблюдается в период активного роста растений - в начале вегетации и бутонизации, составляя соответственно 1,98% и 2,18%. В конце вегетационного процесса содержание экистероидов снижается. У растений *S. cupuliformis* наибольшее содержание экистероидов наблюдается в начале вегетации, составляя 5,14%, а затем этот показатель постепенно уменьшается до 0,64% к концу вегетации. В отношении *S. gmelinii* было показано, что максимальное содержание экистероидов в надземной части приходится на фазы начала вегетации и бутонизации, составляя 3,27% и 3,11% соответственно. Наименьшее содержание экистероидов наблюдается в фазу плодоношения – 0,82%.

В ходе вегетации также происходили изменения в составе экистероидов. У растений *S. manshurica* наибольшее разнообразие экистероидов было обнаружено в начальные две фазы вегетации – 6 и 7 соответственно, однако к моменту цветения их количество резко уменьшается до 4. Надземная часть растений *S. cupuliformis* наиболее разнообразна по составу экистероидов в период бутонизации – 11, в то время как во время цветения этот показатель составляет 4, а к концу вегетации – 3. У растений *S. gmelinii* было обнаружено 20 соединений в период бутонизации, в то время как во время цветения и плодоношения количество экистероидов сокращается до 2 и 1 соответственно.

Установлено присутствие следующих экистероидов: 20-гидроксиэкизон, экизон, 2-дезоксид-20-гидроксиэкизон для всех трех видов, дополнительно в *S. cupuliformis* – полиподин В, в *S. gmelinii* – полиподин В и 2-дезоксидэкизон. Кроме того, выявлен ряд неидентифицированных экистероидов.

Из исследования следует, что во всех трех видах растений наивысшее содержание экистероидов приходится в начальные фазы вегетации, но затем оно снижается. *S. gmelinii* обладает наибольшим разнообразием экистероидов в период бутонизации. Все три вида обладают общими экистероидами и дополнительными уникальными соединениями.

Ссылки:

1. Syrov V. N. et al. // Pharm. Toxicol. 1976. V. 6. P. 690-693.
2. Volodin V.V. et al. // Plant Res. 1999. V. 35, N. 2. P. 76-81.

**Исследование самоограниченных комплексов РНК,
образованных парой олигонуклеотидов**

М.А. Канарская^{1,2}, А.А. Ломзов^{1,2}

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск

электронная почта: makanarskaya@gmail.com

Вторичная и третичная структуры нуклеиновых кислот во многом определяют их биологические функции. Ранее в ИХБФМ СО РАН были детально исследованы самоограниченные комплексы, сформированные парой олигодезоксирибонуклеотидов, которые имеют два попарно-комплементарных участка, между которыми введен гибкий линкер [1]. Опенер – короткая последовательность НК, комплементарная одному из фрагментов одной из цепей самоограниченного комплекса. В результате взаимодействия такого комплекса и опенера комплекс может разворачиваться, образуя линейную незамкнутую форму. Стоппер – короткая последовательность НК, комплементарная опенеру. При добавлении стоппера к раскрытому опенером комплексу, последний должен вновь замкнуться в комплекс такой же молекулярности или более низкой.

Целью данной работы является исследование структуры РНК комплексов, образованных парой олигонуклеотидов, и исследование возможности контроля формы и размера комплексов РНК за счет взаимодействия с РНК-опенером и РНК-стоппером.

Объектом исследования являлись РНК олигонуклеотиды, состоящие из 10 звеньев, соединенных линкерами разной длиной. В качестве опенера и стоппера были взяты последовательности с дополнительным участком из 5 и 10 нуклеотидов. Методом гель-электрофореза в неденатурирующих условиях установлена возможность формирования конкатамерных и самоограниченных комплексов. Молекулярность самоограниченных комплексов определяли путем анализа из взаимодействия с опенером, содержащим нависание размером пять нуклеотидов, методом гель-электрофореза. Исследование взаимодействия самоограниченного комплекса с опенером и стоппером показало, что открытые опенером комплексы не сворачиваются обратно при взаимодействии со стоппером, что противоречит предположению. Мы предположили, что выбранные опенер и стоппер не способны взаимодействовать ввиду термодинамических причин. Поэтому были выбраны новые удлиненные последовательности, более эффективное формирование которых подтверждено методом термической денатурации с оптической регистрацией сигнала. Последующий электрофоретический анализ показал, что при добавлении опенера бимолекулярный комплекс раскрывается в линейную форму, а при добавлении стоппера комплекс возвращается в исходное состояние. При аналогичном взаимодействии с более высокомолекулярными комплексами установлено, что при добавлении стоппера к линейной структуре часть комплексов возвращается в исходное положение, часть сворачивается в структуры с большей подвижностью, что соответствует комплексам с меньшей молекулярностью. Таким образом, было показано, что добавление определенных последовательностей НК к самоограниченным комплексам позволяет направленно изменять их молекулярность и геометрию.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 20-04-0719 и в рамках государственного задания ИХБФМ СО РАН № 123021600208-7.

Ссылки:

1. Zamoskovtseva A.A. et al. // RSC Advances. 2022. V. 12, N. 11. P. 6416-6431.

**Изменчивость содержания вторичных метаболитов овощных культур *Brassica rapa*
в связи с устойчивостью к чешуекрылым вредителям**

А.Б. Курина, А.Е. Соловьева, А.М. Артемьева

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических
ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР)», Санкт-Петербург

электронная почта: nastya_n11@mail.ru

Овощные культуры *Brassica rapa* L. представлены большим сортовым разнообразием с широким диапазоном морфологических, фенологических и биохимических признаков. Капустные культуры поражаются многими видами насекомых-вредителей, прежде всего чешуекрылыми капустными молью, совкой, бабочкой, а также мухами, трипсами, тлями, блошками. Цель нашего исследования заключалась в анализе содержания вторичных метаболитов в образцах капусты вида *B. rapa* L. с разной степенью устойчивости к капустной моли и капустной совке.

Материал исследований включал 29 образцов четырех культур *B. rapa* (пекинская, китайская, розеточная капуста и корнеплодная репа), выращенных на искусственном инфекционном фоне. Биохимический анализ проводился с помощью ГХ-МС и УВЭЖХ.

В результате биохимического анализа образцов капусты, искусственно зараженных капустной молью, идентифицировано всего 110 компонентов различной химической природы, из них: глюкозинолаты (12), продукты распада глюкозинолатов (20), органические кислоты (12), свободные аминокислоты (14), фенольные соединения (17), свободные жирные кислоты (14), многоатомные спирты (12), лактоновые формы кислот (3) и гликозиды (3).

В образцах капусты, зараженных капустной совкой, найдено 93 химических компонента, из них: глюкозинолаты (12), продукты распада глюкозинолатов (10), органические кислоты (12), свободные аминокислоты (14), фенольные соединения (17), свободные жирные кислоты (10), многоатомные спирты (10), лактоновые и фосфатные формы кислот (4) и гликозиды (3).

Выявлены корреляции между степенью устойчивости к поражению капустной молью и содержанием 4-метокси-3-индолилметилглюкозинолата ($r=-0,93$), (1-метилпропил)бензола ($r=-0,62$), малеиновой кислоты ($r=0,42$), кофейной кислоты ($r=0,46$), арабинитола ($r=0,50$).

Найдены корреляции между степенью поражения совкой и содержанием индол-3-карбинола ($r=0,50$), 4-метоксииндол-3-илметилглюкозинолата ($r=0,55$), суммарным содержанием нитрилов ($r=0,48$), изотиоцианатов ($r=0,69$) и индольных глюкозинолатов ($r=0,43$), а также никотиновой кислоты ($r=-0,42$), а-токоферола ($r=-0,41$) и галактинола ($r=-0,45$).

Исследование поддержано грантом РФФИ и Немецкого научно-исследовательского сообщества в рамках научного проекта № 21-516-120001.

Моделирование микровязкости мембраны в окружении зонда активированной кумаринами С-525, С-334, С-314 хемилюминесценции под действием комплекса цитохрома С с кардиолипином

И.Н. Левченко^{1,3}, Г.К. Владимиров², И.В. Володяев³

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва

²Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Институт регенеративной медицины, г. Москва

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва
электронная почта: irnlevchenko@yandex.ru

Применение физических активаторов способствует усилению интенсивности свечения на 2–3 порядка, не влияя на химические процессы, проходящие в системе химических реакций. Физические активаторы природные красители кумарины С-334, С-525, С-314 перехватывают возбуждение у триплетно-возбужденных кетонов, образующихся при рекомбинации перекисных радикалов по механизму Рассела и являются флуоресцентными зондами. При нахождении микровязкости мембраны в окружении зонда хемилюминесценция люминола на 3–4 порядка выше, чем сами возбужденные кетоны [1].

Точность нашего исследования определяется наличием кардиолипина для стабилизации рН, тушением Fe²⁺ и присутствием природных красителей кумаринов С-334, С-525, С-314. Факторы, которые искажают значение микровязкости мембраны в окружении зондов кумаринов С-334, С-525, С-314: недостаточное добавление пероксида водорода, избыточное количество азота (II), метанола, денатурация белка, изменение конформации цитохрома С в комплексе цитохрома С с кардиолипином. Проанализированы системы липопероксидазной и квази-липоксигеназной реакций [2].

Цитохром С в комплексе с кардиолипином отличается от нативного цитохрома по следующим свойствами: (1). Обладает флуоресценцией тирозиновых и триптофановых остатков; (2). Теряет поглощение в полосе Soret (405–410 нм) в результате разрыва координационной связи железа гема с серой М(80) в цитохроме С; (3). Обладает ферментативной активностью; (4). Катализирует образование липидных радикалов в мембране в окружении флуоресцентных зондов природных красителей кумаринов С-334, С-314, С-525. (5). Ферментативная активность зависит не только от концентрации цитохрома С с кардиолипином, но и от соотношения, определяющего процент абсолютного количества денатурированной формы; (6). Микровязкость мембраны в окружении физических активаторов природных красителей кумаринов С-525, С-334, С-314 обладает разным коэффициентом поляризации; (7). Природный краситель кумарин С-525 – «классический» физический активатор хемилюминесценции люминола, окисляется цитохромом С в комплексе с кардиолипином, так же как природные красители кумарины С-334 и С-314, при этом скорость этого окисления ограничивается лишь концентрацией самого цитохрома С, который тоже разрушается в составе цитохрома С в комплексе с кардиолипином под действием пероксида водорода.

Ссылки:

1. Владимиров Ю.А. и др. // Биологические Мембраны. 2009. Т. 26, № 6. С. 493-504.
2. Владимиров Г.К. // Структура и пероксидазная функция комплекса цитохрома с с кардиолипином в водной среде и в неполярном окружении. Москва: Московский Государственный Университет им. М.В.Ломоносова; 2018.

Молекулярные мишени и фармакологический потенциал анемотоксинов

Е.В. Лейченко^{1,2,3}

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
Москва

³Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

электронная почта: leychenko@gmail.com

Морские анемоны (*Actiniaria*) – один из старейших сохранившихся отрядов ядовитых животных, принадлежащих к типу стрекающие (*Cnidaria*), являются богатейшим источником различных пептидных нейро- и цитотоксинов, эффективность которых варьируется в зависимости от структуры (обнаружено по крайней мере 17 типов структурных фолдов) и биологической мишени (потенциал-зависимые Na⁺ и K⁺ каналы, ASICs, TRPV1 и TRPA1 каналы, ацетилхолиновые рецепторы, липиды мембран и различные ферменты), предназначенной для поражения различных животных, таких как ракообразные и позвоночные. Эти пептиды активно применяются в качестве инструментов нейробиологических исследований и служат основой для разработки лекарств.

В настоящее время для поиска и идентификации новых токсинов используются как традиционные методы очистки и выделения полипептидов из яда, так и молекулярно-биологические подходы, включающие клонирование и секвенирование генов, кодирующие токсины, для последующего получения их рекомбинантных аналогов. Недавние успехи применения различных «омикс» технологий в сочетании с биоинформатикой, так называемый «мультиомный» подход к анализу яда, привели к крупномасштабному открытию новых токсинов морских анемонов различных видов. Несомненно, многие из этих токсинов станут полезными фармакологическими инструментами, а некоторые окажутся ценными терапевтическими агентами. Однако, для рационального дизайна новых лекарственных препаратов на основе пептидных токсинов морских анемонов необходимы дополнительные фундаментальные знания: должна быть установлена взаимосвязь между структурой и функцией этих молекул, изучены их биохимические свойства, выяснены механизмы взаимодействия токсина – мишень. Таким образом, задача поиска, исследования структурно-функционального многообразия и механизмов действия пептидных токсинов морских анемонов обладает высокой степенью актуальности, а также научной и практической значимостью.

Проведенный нами протеомный анализ яда тропической морской анемоны *Heteractis magnifica* выявил более 300-х пептидов, принадлежащих к различным структурным классам, главным образом, β-дефензинам и пептидам Кунитц-типа. Среди них впервые обнаружены соединения с нейропротекторными свойствами, которые можно использовать в терапии нейродегенеративных заболеваний. Найдены пептиды, обладающие выраженной анальгетической и противовоспалительной активностью *in vivo*, связанной как с ингибированием протеаз, участвующих в воспалительном ответе, так и с влиянием на ионные каналы и рецепторы, такие как Kv, TRPV1, TRPA1, ASIC и P2X7. Обнаруженные в мукусе *H. magnifica* β-дефензиндобные ингибиторы α-амилаз препятствуют перевариванию крахмала и поступлению глюкозы в кровь и представляют интерес как потенциальные препараты для лечения и/или предотвращения развития метаболического синдрома и сахарного диабета.

Исследование поддержано грантами РФФ № 22-14-00326 и РЦНИ (РФФИ) № 20-54-05006 и ДВФУ, Программа Приоритет 2030: Науки о жизни.

**Метаболиты морских грибов, ассоциированных с водорослями и травами,
и перспективы их дальнейшего изучения при помощи стратегии OSMAC**

Е.В. Лещенко^{1,2}

¹Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

²Тихоокеанский институт биоорганической химии им Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: leshchenko.ev@dvfu.ru

Морские микроскопические грибы являются биотехнологически значимым источником новых вторичных метаболитов с фармакологическим потенциалом. За последние 10 лет в лабораториях химии морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН и лаборатории биологически активных соединений ДВФУ были выделены десятки новых низкомолекулярных соединений из микроорганизмов, ассоциированных с морскими источниками. Так, из гриба *Penicillium thomii* КММ 4674 (морская трава *Zostera marina*) выделены новые поликетиды декалинового типа – зостеропениллины А–L [1]. Эти соединения индуцируют умеренное снижение выработки оксида азота (II) в макрофагах, обработанных ЛПС, в нецитотоксических концентрациях (10.0 мкМ), а также способны ингибировать аутофагию в лекарственно-устойчивых клетках рака простаты человека РС3 в нецитотоксических концентрациях (до 100 мкМ) и могут сенсibilизировать клетки рака простаты человека при использовании лекарственных препаратов с цитотоксической активностью. Из гриба *P. thomii* КММ 4667 (морская трава *Z. marina*) выделены новые сесквитерпены эудесманового типа – томимарины А–Е [2]. Томимарины также вызывают понижение выработки оксида азота (II) в мышинных макрофагах в нецитотоксических концентрациях (10.0 мкМ), обработанных ЛПС. Из гриба *P. antarcticum* КММ 4685 (морская бурая водоросль *Sargassum miyabei*) выделены меротерпеноиды мероантарктины А–С с уникальными 6/5/6/6, 6/5/6/5/6 и 6/5/6/5 полициклическими системами [3], а также новые производные β-резорциловой кислоты [4]. Мероантарктины не были токсичными в отношении клеточных линий клеток рака предстательной железы человека, обладающих различной степенью лекарственной устойчивости: РС3, LNCaP, 22Rv1, VCaP и DU145, двух здоровых клеточных линий предстательной железы человека PNT2 и RWPE-1, в концентрации ≤ 100 мкМ¹. Соединения из *P. antarcticum* существенно ингибировали p-гр в клетках РС3-DR, а сильнейшим ингибитором оказался мероантарктин В, который снижал активность p-гр в наномолярной концентрации ≥ 0.39 мкМ, в то время как для цисплатина данный эффект не наблюдался.

Одним из ограничивающих факторов использования микроскопических грибов в качестве источника «молекул-лидеров» является крайне низкий процент выхода фармакологически значимых молекул по отношению к массе исходного экстракта. Поэтому, подход OSMAC (один штамм — много соединений), основанный на модификации условий роста, является мощной стратегией для открытия новых потенциально активных природных соединений (путем активации «спящих» генов) или увеличения выхода ранее изученных метаболитов.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-73-00190.

Ссылки:

1. Afiyatulloev S.S. // Mar. Drugs. 2017. V. 15. P. 46.
2. Afiyatulloev S.S. // Phytochem. Lett. 2015. V. 14. P. 209–214.
3. Leshchenko E. V. // J. Nat. Prod. 2022. V. 85. P. 2746–2752.
4. Leshchenko E.V. // Mar. Drugs. 2023. V. 21. P. 178.

¹ Все исследования биологической активности для соединений из *P. antarcticum* были выполнены д.б.н. С.А. Дышловым в Клинике Эппендорф, Гамбург, Германия.

**Бактериостатическая активность экстракта пигмента микробного происхождения
в отношении тест-культуры *Clavibacter michiganensis***

Н.С. Ляховченко, А.А. Чепурина, И.П. Соляникова

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород
электронная почта: lyakhovchenko@bsu.edu.ru

Согласно обозначенным тенденциям в стратегической программе (ТП «Биотех-2030»), сфера защиты растений стремится к биологизации [1]. Бактерия *Clavibacter michiganensis* является карантинным организмом как в Европе, так и в Российской Федерации [2]. Исходя из чего, становится актуальным расширение ассортимента штаммов - потенциальных компонентов биопрепаратов, активных в отношении этого фитопатогена. Так, целью исследования стала оценка чувствительности тест-культуры *Clavibacter michiganensis* ВКМ Ас-1402 к экстракту пигмента, образуемого штаммом *Janthinobacterium lividum* ВКМ В-3705D.

Неочищенный экстракт пигмента получали экстракцией из лиофильно высушенной биомассы *J. lividum* ВКМ В-3705D изопропиловым спиртом. Смесь фильтровали с использованием фильтров с диаметром пор 0,1 мкм, упаривали в вакууме и смешивали со стерильной дистиллированной водой в соотношении 1:10. Пигмент, выпавший в осадок, отделяли фильтрованием и растворяли в 99% диметилсульфоксиде (ДМСО). Противогрибковую активность оценивали по степени подавления удельного прироста оптической плотности (при длине волны $\lambda = 600$ нм) тест-культуры в 200 мл жидкой питательной среды (1% пептон). В среду вносили концентрированный и разведенные образцы в воде (4:0,5 и 4:0,25) в количестве 0,05%, 0,1% и 0,15% от объема среды на 24 часа инкубации. Чистый ДМСО в тех же концентрациях использовали в качестве контроля растворителя. В качестве контрольного варианта выступали посеvy без исследуемых веществ.

При культивировании клавибактера в присутствии экстракта-сырца пигмента в ДМСО было выявлено, что разбавленные варианты не оказали существенного влияния на удельную скорость роста культуры, так как различие с контрольной группой было менее 20%, тогда как расчетные критерии достоверности Стьюдента ниже табличных. Степень подавления неразбавленным ДМСО в количестве 0,05% от объема среды составила 2,97% относительно контрольного варианта. Такой эффект оказался несущественным, так как расчетный критерий достоверности Стьюдента ниже табличного. В свою очередь, в том же количестве неразбавленный экстракт подавил прирост на 37,9%. При повышении содержания исследуемого вещества до 0,1% от объема среды выявлено, что степень подавления не разбавленного варианта пигмента составила 39,7%, тогда как для самого растворителя – 25,5%. Повышение содержания исследуемых вариантов в питательной среде до 0,15% от общего объема показало, что степень подавления удельного прироста не разбавленным экстрактом пигмента составила 57,7%. В свою очередь, для ДМСО – 11,8.

Таким образом, неочищенный экстракт виолацеина проявил бактериостатическую активность в отношении штамма *Clavibacter michiganensis* ВКМ Ас-1402. Можно предположить возможность использования пигмента в качестве компонента средств защиты растений. Однако, необходим поиск возможного механизма действия в отношении микроорганизма.

Ссылки:

1. Ляховченко Н.С. и др. // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. 2022. Т. 18, № 4. С.103–106.
2. Kleitman F. et al // Eur J Plant Pathol. 2008. V. 121. P. 463–475.

**Родококки как эффективные катализаторы биосинтеза фармакологически
значимых соединений на основе монотерпеноидов**

П.Ю. Мальцева¹, Н.А. Лучникова^{1,2}, И.В. Ильина³, И.Б. Ившина^{1,2}, Н.Ф. Салахутдинов³

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь

²Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Пермь

³Новосибирский институт органической химии имени академика Н.Н. Ворожцова СО РАН,
Новосибирск

электронная почта: inbox.98@bk.ru

Растительные терпеноиды, в частности, моноциклические монотерпеноиды, представляют собой неисчерпаемый источник новых соединений с выраженным фармакологическим потенциалом [1]. Применение микроорганизмов для конверсии монотерпеноидов – одно из технологически перспективных направлений в данной области, что обусловлено исключительной хемо- и стереоселективностью катализируемых реакций, отсутствием необходимости в защите реакционно-активных центров молекулы, а также устойчивой активностью микроорганизмов в экстремальных условиях среды. Непатогенные актиномицеты рода *Rhodococcus* характеризуются наибольшим разнообразием трансформируемых сложных гидрофобных субстратов [2]. В работе использован штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 1362, поддерживаемый в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним коллекции ИЭГМ, номер 285 во Всемирной федерации коллекций культур, УНУ 73559, ЦКП 480868, www.iegmcoll.ru) и катализирующий процесс направленной трансформации монотерпенового спирта (–)-изопулегола с образованием новых 10-гидрокси и 10-карбокси производных с прогнозируемой аналептической и противоопухолевой активностью. С использованием методов электронной визуализации, электрофоретического рассеяния света и спектрофотометрии исследованы ответные реакции родококков на присутствие (–)-изопулегола. Методом секвенирования нового поколения расшифрован полный геном штамма-биотрансформатора *R. rhodochrous* ИЭГМ 1362. В результате проведенного биоинформатического анализа результатов секвенирования и последующей постановки ПЦР составлен Каталог потенциальных функциональных генов биоконверсии (–)-изопулегола.

Исследования поддержаны грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, АААА-А19-119112290008-4, Договор 075-15-2021-1051, а также при использовании оборудования ЦКП «Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов» и «Исследование материалов и веществ» Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН.

Ссылки:

1. Le T.M. et al. // Chemical Record. 2022. V. 22. P. 1–32.
2. Ivshina I.B. et al. // In Microbial Resources, ed. by I. Kurtboke. Elsevier. 2017. P. 121–148.

**Вторичные метаболиты морского гриба *Penicillium hispanicum* КММ 4689
при гипосолевом стрессе**

Л.Е. Нестеренко, Е.А. Юрченко, А.Н. Юрченко

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова, ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: nesterenko_le@piboc.dvo.ru

Осмотический стресс и изменение температуры при культивировании морских грибов являются перспективным способом получения известных и новых биоактивных вторичных метаболитов [1]. Ранее в ТИБОХ ДВО РАН с помощью метода ВЭЖХ УФ/МС было показано, что культивирование морского мицелиального гриба *Penicillium hispanicum* КММ 4689 в условиях осмотического (солевого) стресса при 22 °С и при 30 °С действительно приводит к изменению метаболитного состава. При культивировании при температуре 22 °С и содержании морской соли 5 мг/мл был получен экстракт с высокой радикал-связывающей активностью и низкой токсичностью, а также существенно измененным метаболитным профилем [2].

Целью данной работы было выделение индивидуальных соединений из культуры *P. hispanicum* КММ 4689, полученной при гипоосмотических условиях (22 °С, содержание морской соли 5 мг/мл, 21 день), и установление их структуры.

Из этилацетатного экстракта при помощи хроматографических методов, включая ВЭЖХ, выделены четыре индивидуальных соединения: пероксид эргостерина (1), 16,17-дигидроксидеокси-дигидроизоаустамид (2), 3b-гидроксидеоксиизоаустамид (3), (+)-деоксиизоаустамид (4) (рисунок 1), три из которых ранее были выделены из этого гриба [3]. Брутто-формулы соединений были установлены на основании анализа данных HRESIMS и подтверждены данными спектров ¹³С ЯМР. Химическая структура всех соединений установлена на основании анализа спектров ¹Н и ¹³С ЯМР (при помощи экспериментов HSQC, HMBC, COSY).

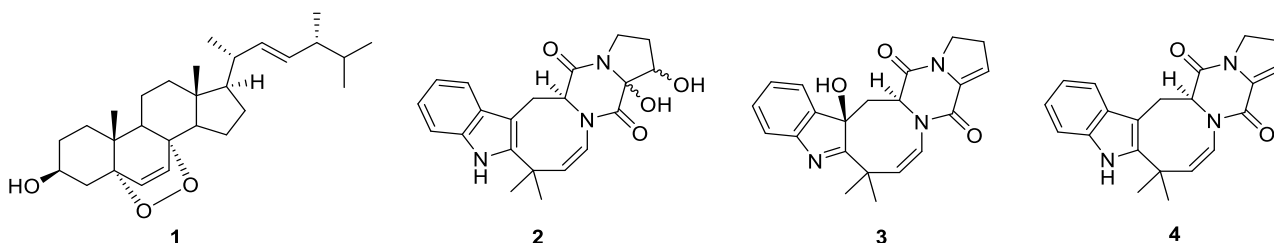


Рисунок 1 – Структуры выделенных соединений

Пероксид эргостерина (1) (6,2 мг) ранее не выделялся из исследуемого штамма гриба *P. hispanicum*. Соединения 2–4 были выделены в количестве 1,3 мг, 0,73 мг и 3,6 мг. Выход этих соединений был меньше, чем при предыдущем культивировании в базовых условиях (22 °С, содержание морской соли 37,8 мг/мл, 21 день), что также соответствует более ранним исследованиям [2].

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075–15-2021-1052.

Ссылки:

1. Overy D. et al. // *Mar. Drugs*. 2017. V. 15, N. 8. P. 1-19.
2. Nesterenko L.E. et al. // *Fermentation*. 2023. V. 9, N. 4. P. 1-23.
3. Zhuravleva O.I. et al. // *Mar. Drugs*. 2021. V. 19, N. 1. P. 1-12.

**Изучение механизма антимиграционной активности актинопоринов
морской анемоны *Heteractis magnifica***

А.П. Павленко, А.Н. Кветкина, Е.В. Лейченко

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: apavlenko141@gmail.com

Актинопорины – цитолитические полипептиды, содержащиеся в ядовитом секрете морских анемонов и формирующие поры в мембранах клеток, что приводит к их гибели. Условием связывания актинопоринов с мембраной клеток является наличие в ее составе сфингомиелина, содержание которого, как известно, может быть повышено в некоторых видах опухолевых клеток. Кроме того, сфингомиелин образует сеть меж- и внутримолекулярных водородных связей, чрезмерная плотность которой нарушает меж- и внутриклеточные сигналы, что лежит в основе инициации онкогенеза, роста опухолей, уклонения их от иммунного ответа хозяина и приводит к устойчивости опухолей к терапии [1].

Структурно-функциональной особенностью актинопоринов также является наличие RGD-мотива – последовательности аминокислот аргинин-глицин-аспарагиновая кислота. Показано, что этот участок отвечает за связывание с интегринами, которые, в свою очередь, играют важную роль в передаче сигналов между клетками, и участвуют в метастазировании, ангиогенезе и других процессах.

Ранее было обнаружено, что Hct-S3, актинопорин морской анемоны *Heteractis magnifica* (= *Heteractis crispera*), обладает эффективной антимиграционной активностью [2]. Выдвинуто предположение, что такая активность может быть следствием не только пороформирующей способности токсина, но и взаимодействия актинопорина с белками цитоскелета, интегринами. Сочетание альтернативных сайтов связывания в одной молекуле, вероятно, обуславливает эффективную антимиграционную активность этих соединений, а также может способствовать снижению устойчивости опухолей к лекарственной терапии.

В данной работе для выяснения механизма антимиграционной активности была исследована биологическая активность актинопоринов с мутациями в RGD-мотиве – Hct-S3(RGA) и Hct-S3(AGA).

Цитотоксическая активность актинопоринов была исследована на клеточной линии карциномы кишечника человека HT-29. Hct-S3(RGA) в концентрациях до 10 мкМ оказался нетоксичным, в то время как Hct-S3(AGA) снижал жизнеспособность клеток на 50% в концентрации 4,7 мкМ, и был более токсичным, чем актинопорин, не содержащий мутаций ($IC_{50} = 6,8$ мкМ [2]). Антимиграционная активность была исследована на клеточной линии HT-29. В нетоксичных концентрациях (от 0,01 до 0,5 мкМ) актинопорины подавляли миграцию клеток от 25 до 42 %. Максимальная антимиграционная активность наблюдалась в концентрации 0,01 мкМ. Следует отметить, что антимиграционная активность актинопоринов, содержащих мутации в RGD-мотиве, снижается по сравнению с актинопорином без мутаций.

Ссылки:

1. Tallima H. et al. // *Lipids Health Dis.* 2021. V. 20. P. 1–12.
2. Kvetkina A. et al. // *Molecules.* 2020. V. 25. P. 1–13.

Идентификация бактериальных пигментов у *Rhodococcus erythropolis* X5

А.С. Парфенова

Тульский государственный университет, Тула
электронная почта: asya17.parfenova@mail.ru

Бактериальные пигменты являются альтернативой синтетическим пигментам в связи с их лучшей биоразлагаемостью и низкой токсичностью, оказывая минимальное негативное действие на окружающую среду. Согласно аспектам «зеленой химии», менее токсичные продукты и более натуральный исходный материал благоприятны для современных производственных отраслей. Натуральные пигменты не только способны повысить конкурентоспособность продукции, но и проявляют выгодную биологическую активность в качестве антиоксидантов и противораковых средств [1]. Поэтому важно исследовать различные природные источники пигментов и их дальнейшее применение.

Rhodococcus erythropolis X5, грамположительная почвенная бактерия, известная тем что накапливает триацилглицериновые (ТАГ) липиды [2], которые могут быть источником ценных жирных кислот и могут быть использованы в качестве сырья для получения биодизеля. В дополнение к ТАГ, данный штамм бактерий продуцирует биосурфактанты гликолипидной природы [3]. Есть сведения, что некоторые бактерии рода *Rhodococcus* продуцируют углеводородные пигменты – каротиноиды, как например β -каротин [4].

Согласно ранее проведенному биоинформатическому анализу генома *Rhodococcus erythropolis* X5, основной каротиноидный состав может быть представлен γ -каротином, 4-кето- γ -каротином и β -зеакаротином [5].

Пигменты были выделены из бактериальной биомассы с применением жидкостной экстракции. Каротиноиды идентифицировали методом тонкослойной хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии. В ходе исследования было подтверждено наличие синтеза каротиноидных пигментов у бактерий *Rh. erythropolis* X5, а именно γ -каротина и кето- γ -каротина.

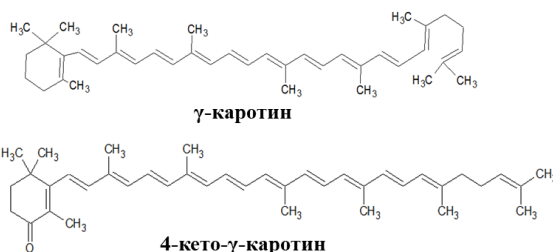


Рисунок 1 – Структуры обнаруженных соединений

Требуются дополнительные исследования в сторону увеличения синтеза бактериальных пигментов, а именно оптимизация условий культивирования. Кроме этого передовые методы генетической и метаболической инженерии могут быть использованы для изучения бактериальных пигментов в биотехнологических целях.

Ссылки:

1. Venil S.K. et al. // Process Biochem. 2013. V. 48, N. 7. P. 1065-1079.
2. Thi Mo L. et al. // Microorganisms. 2022. V. 10, N. 8. P. 1594.
3. Лыонг Т. М. и др. // Известия вузов. 2016. № 1. P. 50-60.
4. Cappelletti M. et al. // Cham: Springer International Publishing. 2019. V. 16. P. 137-171.
5. Парфенова А.С. // Материалы Международного молодежного форума «Ломоносов-2023». Макс Пресс. 2023. [Электронный ресурс].

Особенности комплексообразования G-квадруплексов из промотора с-MYC с ДНК-метилтрансферазами

А.С. Петров, А.В. Сергеев, Е.С. Громова

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

электронная почта: asp2109@yandex.ru

У млекопитающих метилирование ДНК по остаткам цитозина в CpG-сайтах осуществляет *de novo* ДНК-метилтрансфераза (МТазой) Dnmt3a. С-концевой каталитический домен белка (Dnmt3a-CD) проявляет метилирующую активность даже в отсутствии N-концевой регуляторной области.

В промоторах некоторых генов доказано существование G-квадруплексов (G4). Промоторы онкогенов, в отличие от генов-супрессоров опухолей, должны быть метилированы, однако данные о возможном влиянии G4 на метилирование отсутствуют. Целью работы стало изучить комплексообразование Dnmt3a-CD, M.SssIc G-квадруплексом.

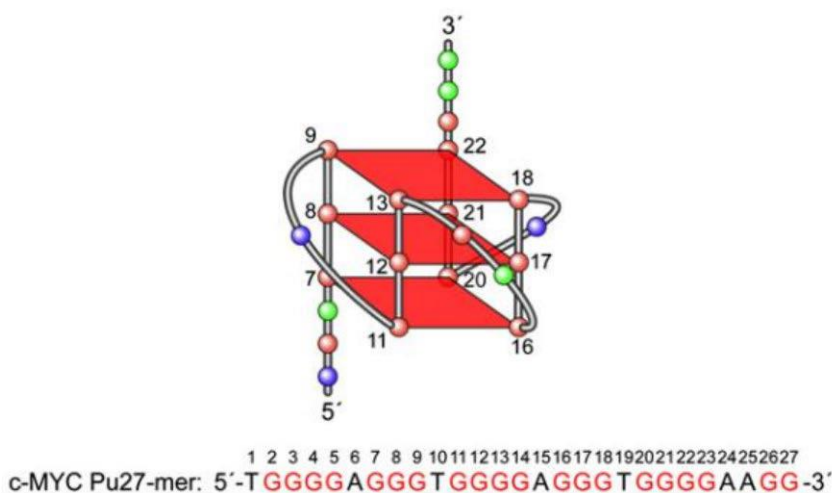


Рисунок 1 – Модельный ДНК-квадруплекс

Олигонуклеотид с-MYC Pu27-mer содержит в своем составе флуоресцентную метку и последовательность (GGGT)₄, (рисунок 1), которая складывается в параллельный квадруплекс [1]. Для сравнения ДНК-метилтрансферазы Dnmt3a была взята хорошо изученная прокариотическая МТазы M.SssI. В качестве термодинамического ингибитора брался кураксин СВL0137. Константа диссоциации образующихся комплексов измерялась методом поляризации флуоресценции.

Константа диссоциации комплекса G4 и Dnmt3a составила 142±8 нМ, с МТазой M.SssI комплекс оказался менее прочным, K_D = 1200±200 нМ. Было установлено, что кураксин действительно уменьшает прочность комплекса G4 и Dnmt3a, K_D = 500±60 нМ, а наиболее прочный комплекс оказался у Dnmt3a с 30-звенным дуплексом, K_D = 65±6 нМ.

**Изучение биологической активности пептида HCRG21, блокатора TRPV1 канала,
в модели псориазоподобного поражения кожи**

Н.А.Приименко^{1,2}, А.А.Климович², Ю.В.Кожевникова², И.Н. Гладких², О.В. Синцова²,
Е.В. Лейченко^{1,2}

¹Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

²Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: priimenko.na@students.dvfu.ru

Псориаз – один из самых распространенных в мире дерматозов, который характеризуется болью, зудом, долго незаживающими ранами и поражениями внутренних органов. Известно, что одной из причин, приводящих к развитию кожных заболеваний, является дисфункция ионных каналов и ионотропных рецепторов. TRPV1 канал представляет собой полимодальный ноцицептор, который помимо воспалительной и невропатической боли также участвует в патогенезе зуда [1]. Таким образом, модуляторы TRPV1 представляют собой перспективную молекулярную базу для разработки препаратов для лечения псориаза, а также для облегчения зуда у людей. В яде морской анемоны *Heteractis crispa* обнаружен первый полный блокатор TRPV1, пептидный токсин Кунитц-типа HCRG21 [2], который был выбран для изучения его действия в модели псориазоподобного поражения кожи мышей линии CD-1.

Наработка рекомбинантного пептида HCRG21 для эксперимента была проведена в бактериальной системе *Escherichia coli*. Моделирование псориазоподобного поражения кожи у мышей во всех группах проводили по ранее разработанной методике [3] в течение 9 дней с использованием коммерческого крема «Кераворт» (Glenmark Pharmaceuticals, Индия), содержащего 5%-ный имиквимод. Лечение проводили в течение 5 дней. В качестве положительного контроля использовали мазь «Синафлан» (Нижфарм АО, Россия). Тяжесть поражения кожи оценивали с помощью клинического индекса распространенности и тяжести псориаза PASI (Psoriasis Area Severity Index). Показано, что после двух нанесений в группах, получавших терапию «Синафланом» и вазелиновой мазью с 0,005 и 0,025%-ным содержанием HCRG21, индекс PASI снизился примерно в 1,5 раза по сравнению с группой отрицательного контроля. Дальнейшее нанесение мази «Синафлан» и мази с 0,025%-ным содержанием HCRG21 слабо влияло на восстановление эпидермиса. При этом лечение мазью с 0,005%-ным содержанием HCRG21 способствовало восстановлению кожного покрова мышей и стимулировало рост волос на поврежденной коже. Полученные данные могут быть использованы для дальнейших исследований пептида HCRG21 и его роли в заживлении различных дерматозов.

Исследование поддержано ДВФУ, программа «Приоритет 2030», Науки о жизни.

Ссылки:

1. Гладких И.Н. и др. // Успехи биол. Химии. 2021. Т. 61. С. 107–154.
2. Monastyrnaya M. et al. // Mar. Drugs. 2016. V. 12. P. 2–20.
3. van der Fits L. et al. // J. Immunol. 2009. V. 182. P. 5836–5845.

**Изучение свойств пептидов с целью терапии болезни Альцгеймера
на модели трансгенных мышей APP^{swe}/PS1^{dE9}/Blg**

А.И. Радченко¹, Е.В. Кузубова¹, М.В. Корокин¹, К.Д. Чапров²

¹Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород

²Институт физиологически активных веществ РАН, Черноголовка

электронная почта: sandrinkaradchenko@gmail.com

Установлено, что в мире 55 миллионов человек страдает деменцией, причина которой — болезнь Альцгеймера. На нее приходится около 60% случаев. Бета-амилоидный (A β) пептид представляет собой продукт гидролиза белка-предшественника амилоида APP (amyloid precursor protein). APP является широко экспрессируемым трансмембранным белком первого типа с тремя основными изоформами: APP695, APP751 и APP770. Для поиска молекулярных механизмов, лежащих в основе развития и прогрессии БА, были созданы животные модели.

В работе использована сублиния мышей APPSWE/PS1dE9, которая была получена от скрещивания животных B6; C3-Tg(APP^{swe},PSEN1dE9)85Dbo/Mmjax на смешанном генетическом фоне. Потомство генотипировали методом конвенционной ПЦР с использованием одной пары специфичных праймеров – либо на PS1, либо APP, поскольку обе трансгенные кассеты локализованы в одном локусе на хромосоме 9 в геноме мыши.

Для исследования был синтезирован пептид со следующей формулой Ac-DGlu-DGlu-DAla~DHS-NH₂. В ходе работы были сформированы опытные и контрольные группы мышей 5-ти месячного возраста (n=10). Мыши из опытной группы были заколоты пептидом в течение месяца с временным промежутком в одни сутки. После терапии были проведены поведенческие тесты: распознавание нового объекта, О-образный лабиринт, светлая-темная камера, лабиринт Барнса. Результаты тестирования показали повышенную активность и стрессоустойчивость у мышей, прошедших терапию, по сравнению с контрольной группой.

Помимо поведенческого тестирования, была проведена гистология для оценки числа амилоидных включений в гиппокампе и коре мозга. Нами было показано, что у мышей, прошедших терапию пептидом, число и размер бляшек меньше, чем у мышей контрольной группы (Рисунок 1). В среднем у животных из опытной группы в коре обнаружено 228 амилоидных включений, а в гиппокампе – 63. У животных из контрольной группы – в среднем в коре 287 амилоидных включений, а в гиппокампе – 76.

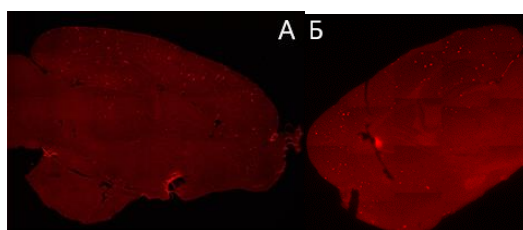


Рисунок 1 – Гистологический анализ включений A β на срезах мозга опытной (А) и контрольной группы (Б)

Таким образом, в ходе работы установлено, что пептид снижает образование амилоидных включений у животных линии APP, что показывают результаты поведенческих тестирований и гистология гиппокампа и коры головного мозга.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-25-00376.

Ссылки:

1. Masters C.L. et al. // Nature reviews. Disease primers. 2015. V. 1. P. 150-156.
2. Konttinen H. et al. // Stem cell reports. 2019. V. 13. P. 669-683.
3. Pan J.X. et al // Communications biology. 2021. V. 4. P. 1326-1339.

**Ген-кодируемые антимикробные пептиды растений и грибов:
сравнительный структурно-функциональный аспект**

Е.А. Рогожин^{1,2,3}, А.С. Барашкова^{1,2}

¹*Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
РАН, Москва*

²*Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург*

³*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанова РАН, пос. Борок,
Ярославская область*

электронная почта: rea21@list.ru

Антимикробные пептиды (АМП) как продукты рибосомального синтеза достаточно широко представлены практически во всех живых организмах, при этом их наибольшее разнообразие представлено в грибах и высших растениях.

Сравнительный структурный анализ АМП грибного и растительного происхождения в ряде случаев указывает на ряд общих черт таких молекул, в частности, наличие подобных цистеиновых мотивов, идентичных аминокислотных остатков (консервативных замен) в определенных положениях полипептидной цепи, а также общая гомология пространственной укладки молекул (фолдинга). Так, на основании такого сопоставления можно заключить, что общими для растений и грибов являются АМП с типом укладки полипептидной цепи в пространстве «цистеин-стабилизированный альфа/бета мотив, Cs α/β », как правило, длиной не более 50 аминокислотных остатков. Примерами таких пептидов у растений служат тионины и дефензины, а для грибов – исключительно дефензины. Стоит также отметить, что на основании анализа геномных, транскриптомных и протеомных данных для ряда видов растений и грибов было предсказано наличие так называемых дефензино-подобных структур, которые отличаются от классических форм характерными сдвигами в положении остатков цистеина и замыкании дисульфидных мостов. Детальный анализ совокупности таких пептидов дает основание предполагать их происхождение от общего предка и дальнейшую совместную эволюцию. В этой связи важно также принимать во внимание такое важное обстоятельство как нераскрытый потенциал АМП грибного происхождения, лимитирующими факторами которого являются ограниченный интерес к данной группе (аскомицетам и базидиомицетам) как источнику функционально активных полипептидов, а также сложностью алгоритма их выделения из биологического материала (по сравнению с растениями) [1,2].

Успешное преодоление данных ограничений в дальнейшем позволит провести более объективную сравнительную характеристику всей совокупности АМП грибного и растительного происхождения, кроме того, обозначить подходы к их совместной классификации.

Исследование поддержано грантом РНФ № 19-76-30005-П.

Ссылки:

1. Barashkova A.S. and Rogozhin E.A. // BMC Plant Methods. 2020. V. 16. E. 143.
2. Essig A. et al. // J. Biol. Chem. 2014. V. 289, N. 50. P. 34953-34964.

**Инсектотоксичность протеазы S из *Photorhabdus laumondii*
и ее действие на белки гемолимфы *Galleria mellonella***

А.О. Светлова¹, М.А. Карасева¹, О.В. Побегуц², М.А. Галямина², И.П. Смирнов², И.В. Демидюк¹

¹Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

²ФГБУ ФНКЦ ФХМ им Ю.М. Лопухина ФМБА России, Москва

электронная почта: svetlovaanastasia@yandex.ru

Протеаза S (PrtS) – секреторная цинковая металлопротеаза семейства M4, обнаруженная у бактерий *Photorhabdus laumondii*, являющихся одновременно симбионтами нематод рода *Heterorhabditis* и патогенами насекомых. Данный фермент относится к группе протеализинподобных протеаз (ППП), представители которой широко распространены у бактерий, встречаются у грибов и архей. Биологические функции ППП неизвестны, однако имеющиеся данные указывают на их вовлеченность во взаимодействия бактерий с животными и растениями, а также, вероятно, в патогенез. Предполагается также, что ППП участвуют в межбактериальной конкуренции. Таким образом, изучение биологических функций ППП с использованием *P. laumondii* в качестве модельного объекта может дать новые данные о механизмах разных типов взаимодействий бактерий с другими организмами.

Считается, что PrtS является фактором патогенности *P. laumondii*. Показано, что этот фермент обладает инсектотоксичностью и способен вызывать меланизацию насекомых, однако прямых данных о роли PrtS в патогенезе нет. В данной работе мы получили рекомбинантную PrtS, которая по энзиматическим свойствам идентична природному ферменту. Наличие рекомбинантной протеазы позволило впервые установить зависимость инсектотоксичности и меланизации от количества PrtS с использованием личинок большой восковой моли *Galleria mellonella* в качестве модели. Оказалось, что инсектотоксичность PrtS существенно снижена по сравнению с действием ППП из неэнтомопатогенных бактерий, однако способность вызывать меланизацию у PrtS и других исследованных ППП практически не различается. Таким образом, инсектотоксичность ППП и, в частности, PrtS, по-видимому, не связана с меланизацией насекомых и, вероятно, определяется действием ферментов на разные субстраты.

Поскольку PrtS является секреторной, у нее, вероятно, есть специфические мишени в гемолимфе насекомых. Мы впервые провели протеомный анализ гемолимфы *G. mellonella* после обработки PrtS и определили потенциальные субстраты фермента, большинство из которых, по-видимому, участвует в иммунном ответе. Следовательно, при бактериальной инфекции действие PrtS может быть связано с модуляцией иммунного ответа. Таким образом, дальнейшие исследования биологической роли ППП на модели *P. laumondii* должны быть направлены на выяснение деталей взаимодействия PrtS с иммунной системой при инфекции *in vivo*.

Работа выполнена при поддержке программы развития Центра геномных исследований «Курчатовский геномный центр» (соглашение № 075-15-2019-1659).

**Бета-ионон как индуктор специфического стресс-ответа
в бактериальных клетках**

Д.Е. Сидорова¹, О.Е. Мелькина¹, О.А. Кокшарова^{1,2}, Е.Н. Вагнер³, И.А. Хмель¹, В.А. Плюта¹

¹ФГБУ КК НБИКС-ПТ НИЦ «Курчатовский институт», Москва

²НИИФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

³ФГБОУ ВО РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва

электронная почта: plyutaba@gmail.com

Используя группу чувствительных и высокоспецифичных lux-биосенсоров, проведено исследование механизма действия на бактериальную клетку летучего органического соединения (ЛОС) β-ионона. Ненасыщенный кетон β-ионон является перспективным фармакологическим, биотехнологическим и сельскохозяйственным агентом. Lux-биосенсоры (биолюминесцентные штаммы *Escherichia coli*) содержат плазмиды с генами *luxCDABE* *Photobacterium luminescens*, кодирующими бактериальную люциферазу и расположенными под индуцируемыми промоторами: «теплового шока» (*PibpA* и *PgrpE*), окислительного стресса (*PkatG*, *Pdps*, *PsoxS*) и SOS-регулона (*PcolD* и *PdinI*).

В работе показано, что добавление β-ионона индуцирует в клетках *E. coli* каталазный промотор (*PkatG*) и другой ОхуR-зависимый промотор *Pdps*, но не *PsoxS*. Влияние β-ионона на индукцию промоторов *PibpA* и *PgrpE* (повреждение белков) и *PcolD* и *PdinI* (повреждение ДНК) было выражено слабо или отсутствовало. Таким образом, впервые показано, что β-ионон вызывает специфичный ответ в бактериальных клетках, а именно окислительный стресс с образованием активных форм кислорода - перекиси водорода, но не супероксид-анион-радикала.

Также впервые показано, что β-ионон ингибирует DnaKJE-ClpB-зависимый рефолдинг термоинактивированной люциферазы *Photobacterium leiognathi* в штамме *ΔibpB* значительно сильнее, чем в диком штамме *E. coli*. При высоких концентрациях β-ионон способен конкурировать за связывание с гидрофобными сайтами в денатурированной макромолекуле не только с малым шапероном *IbpB*, но и с шаперонами DnaKJE, поскольку частично ингибирует рефолдинг в штамме дикого типа.

Работа частично финансировалась в рамках Тематического плана Государственного задания НИЦ «Курчатовский институт» и соглашения с Минобрнауки № 075-15-2019-1659.

Антрахиноновые производные морского гриба *Asteromyces cruciatus* КММ 4696
и их действие на *Staphylococcus aureus*

С.С. Старновская, О.И. Журавлева, Е.А. Чингизова, А.Н. Юрченко

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова, ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: starnovskaya_ss@piboc.dvo.ru

Ранее в ТИБОХ ДВО РАН был изучен облигатный морской гриб *Asteromyces cruciatus* КММ4696 (бурая водоросль *Sargassum pallidum*, Японское море), из которого получены хлорсодержащие соединения акруципентины А–F. Эти соединения показали значительную антибактериальную активность в отношении *Staphylococcus aureus* [1].

В ходе данной работы было проведено дальнейшее изучение неполярных фракций этилацетатного экстракта гриба *Asteromyces cruciatus* КММ4696. В результате были выделены новые антрахиноновые производные акруцихиноны А–С (1–3), а также шесть известных родственных соединений (рисунок 1). Структуры выделенных соединений установлены методами ЯМР и масс-спектрометрии высокого разрешения. Абсолютные стереоконфигурации новых акруцихинонов А–С были определены с помощью спектроскопии КД и квантово-химических расчетов. Акруцихинон С (3) является первым представителем антрахиноновых производных с 6/6/5 циклическим скелетом. Предложен вероятный путь биосинтеза нового акруцихинона С.

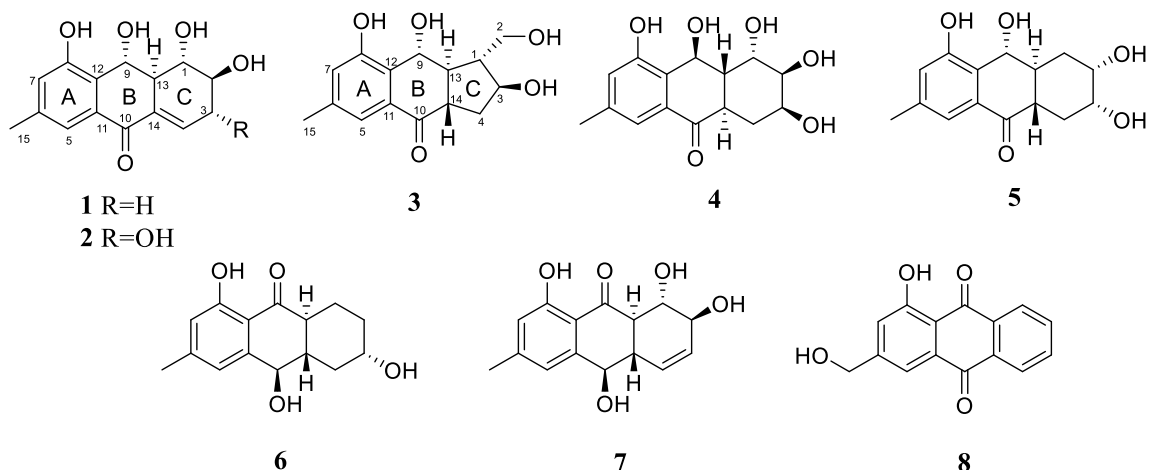


Рисунок 1 – Структуры выделенных соединений

Соединения 1–4 и 5–8 показали значительную антимикробную активность в отношении *Staphylococcus aureus*, а акруцихинон А (1), дендриол В (4), кониотиринон В (6) и ω -гидроксипахибазин (8) снижали активность ключевого стафилококкового фермента сортазы А. Кроме того, было показано, что антрахиноны значительно снижают негативное влияние *S. aureus* на жизнеспособность, миграцию и пролиферацию инфицированных кератиноцитов HaCaT.

Исследование поддержано грантом РФФ № 23-24-00471.

Ссылки:

1. Zhuravleva O.I. et al. // Journal of Fungi. 2022. V. 8, N. 5. P. 454.

Вторичные метаболиты морского гриба *Penicillium antarcticum* КММ 4670

О.О. Хмель¹, Е.А. Чингизова², А.Н. Юрченко²

¹Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

²Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

электронная почта: khmel.oo@dvfu.ru

Морские грибы, выделенные из донных отложений, способны продуцировать вторичные метаболиты с выраженными антимикробными свойствами [1]. В связи с этим, морские микроскопические грибы могут являться перспективными источниками новых лекарственных препаратов [2].

Для поиска перспективных источников биологически активных соединений был выбран штамм микромицелиального гриба *Penicillium antarcticum* КММ 4670 из морских отложений Охотского моря. В результате разделения этилацетатного экстракта этого гриба различными хроматографическими методами были выделены два новых циклопиановых дитерпена 4-гидроксилептосфин С (**1**), 13-эпи-конидиогенон F (**2**), и новый предшественник кладоспорина антакетид А (**5**), а также известные конидиогенон F (**3**), лептосфин С (**4**), 2-((2*R*,6*S*)-6-метилтетрагидро-2*H*-пиран-2-ил)уксусная кислота (**6**) и кладоспорин (**7**) (рисунок 1).

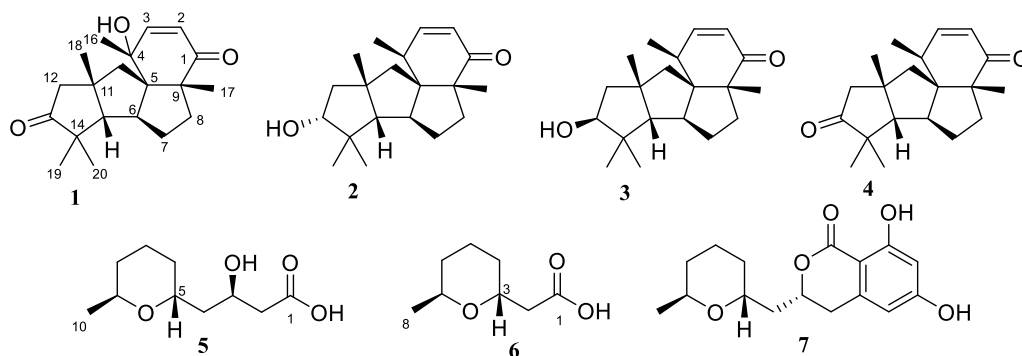


Рисунок 1 – Структуры выделенных соединений

Химические структуры выделенных соединений **1–7** были установлены при помощи одно- и двумерной ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения. Абсолютные стереоструктуры выделенных циклопианов **1–4** определены с использованием модифицированного метода Мошера и квантово-химических расчетов спектров ЭКД.

Исследована антимикробная активность выделенных соединений в отношении *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Candida albicans*, а также ингибирование активности фермента сортазы А. Кроме того, была исследована цитотоксическая активность соединений в отношении кардиомиоцитов Н9с2 млекопитающих. В результате было обнаружено, что новый циклопиан 13-эпи-конидиогенон F (**2**) является ингибитором сортазы А и может стать перспективным антибактериальным средством.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075–15-2021-1052.

Ссылки:

1. Wang C. et al. // *Phytochem. Rev.* 2020. V. 20. P. 88-117.
2. Yurchenko A.N et al. // *Mar. Drugs.* 2021. V. 19, N. 2. P. 88.

**Исследование экспрессии мРНК субъединиц гетеромерных никотиновых
ацетилхолиновых рецепторов (нАХР) для моноцитов и макрофагов,
участвующих в патогенезе сепсиса**

И.В. Холошенко^{1,2}, И.В. Шелухина²

¹Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева, Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
Москва

электронная почта: *innakholos5@gmail.com*

Моноциты и дифференцирующиеся из них макрофаги продуцируют анти- и провоспалительные цитокины, в связи с чем играют важную роль в патогенезе сепсиса. Был исследован механизм холинергического противовоспалительного пути макрофагов только для $\alpha 7$ субъединицы нАХР, но данный путь в своей регуляции может включать и другие гетеромерные подтипы нАХР, которые могут оказывать противовоспалительный, антицитокиновый и иммуностимулирующий эффекты на различных стадиях сепсиса. Сепсис на данный момент является широко распространенным и высоколетальным заболеванием, и это свидетельствует о том, что мы еще далеки от полного понимания механизмов системных воспалительных процессов и, как следствие, разработанные пути лечения сепсиса недостаточно эффективны.

Целью работы является определение экспрессии мРНК субъединиц нАХР для моноцитов, неполяризованных M0, классически M1 и альтернативно M2 поляризованных макрофагов, а также с инкубацией с антагонистами – α -конотоксином RgIA и синтезированным в лаборатории синтетическим α -конотоксином RgIA4 с неприродными аминокислотами. В работе использовали клеточную линию ТНР-1.



Рисунок 1 – Структуры α -конотоксинов RgIA и RgIA4

Была обнаружена экспрессия мРНК субъединиц нАХР для неполяризованных (M0), классически (M1) и альтернативно (M2) поляризованных макрофагов: $\alpha 4$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\alpha 10$, $\beta 2$, $\beta 4$. Дифференцировка моноцитов клеточной линии ТНР-1 в неполяризованные макрофаги M0 приводила к снижению экспрессии мРНК $\alpha 7$ нАХР и увеличению $\alpha 9$, $\beta 2$, $\beta 4$ субъединиц нАХР. При последующей классической поляризации макрофагов (M1) было снижение уровня мРНК $\alpha 9$ и $\beta 2$, $\beta 4$ субъединиц фактически до их уровня представленности в исходных моноцитах ТНР-1. Альтернативная поляризация макрофагов (M2) приводила к дальнейшему повышению уровня мРНК $\alpha 5$ и $\alpha 9$ субъединиц нАХР. В зависимости от функционального состояния макрофагов наблюдается изменение экспрессии ряда субъединиц нАХР, которые могут указывать на потенциально важную роль этих рецепторов в специфических защитных реакциях данных клеток.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-24-00769.

Ссылки:

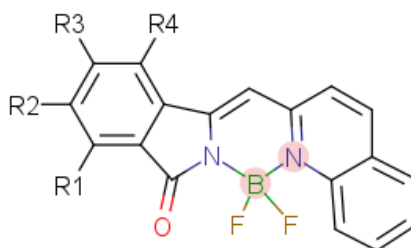
1. Pennington, M. W. et Al. // Bioorganic & Medicinal Chemistry. 2018. V. 26, N. 10. P. 2738–2758.

**Влияние количества и природы галогеновых заместителей
3-(хинолин-2-илметилден)изоиндолин-1-он
на его структурные и электронные характеристики**

А.Г. Шатило, С.Д. Усольцев

Ивановский государственный химико-технологический университет, Иваново
электронная почта: ag.shatilo@mail.ru

Флуоресцентные хелатные комплексы бора (III) с производными дипиррина пользуются широкой популярностью в научной литературе благодаря своим уникальным фотофизическим характеристикам, в частности – высоким квантовым выходам флуоресценции и коэффициентам молярной экстинкции. Новым перспективным классом высокофлуоресцентных комплексов бора (III) являются борфторидные комплексы 3-(хинолин-2-илметилден)изоиндолин-1-она. Данное семейство соединений, ввиду ряда структурных и электронных особенностей несет в себе крайне высокий потенциал применения в сенсорике и фотонике. В настоящей работе методами теории функционала плотности исследован ряд галогенпроизводных борфторидных комплексов 3-(хинолин-2-илметилден)изоиндолин-1-она, различающихся количеством и природой атомов галогена в изоиндолиноновом фрагменте:



R1=R2=R3=R4=H,F,Cl,Br

R1=R4=H, R2=R3=F,Cl,Br

В работе рассмотрены эффекты замещения на геометрические параметры комплексов, а также на их электронную структуру в основном и возбужденном состоянии. Результаты проведенных исследований будут использованы для более глубокого описания сольватохромных свойств обсуждаемых соединений в дальнейших изысканиях.

Ароматические метаболиты морского микроскопического гриба
Aspergillus chevalier КММ 4176

Н.П. Шлык^{1,2}, Е.В. Лещенко^{1,2}

¹Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

²Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: shlyk.np@dvfu.ru

Известно, что морские микроскопические грибы зарекомендовали себя как перспективный источник новых биологически активных метаболитов [1,2]. В рамках поиска новых грибных штаммов – источников вторичных метаболитов был проведен широкомасштабный скрининг для более чем трехсот штаммов из Коллекции Морских Микроорганизмов (КММ) ТИБОХ ДВО РАН. В рамках скрининга была исследована цитотоксическая активность в отношении клеток линий Hela, PC3, MCF-7, H9c2 и антибактериальная активность в отношении *Staphylococcus aureus*, а также проведен ТСХ анализ. На основании полученных данных для дальнейшей работы был отобран штамм гриба *Aspergillus chevalieri* КММ 4176 и культивирован в 100 колбах Эрленмейера на рисовой среде с использованием морской воды (Японское море). Мицелий гриба вместе со средой экстрагирован этилацетатом. Этилацетатный экстракт профильтрован через бумажный фильтр и упарен при пониженном давлении на роторном испарителе. Далее сухой первичный этилацетатный экстракт был дробно экстрагирован последовательно гексаном и этилацетатом. Этилацетатный экстракт высушен и разделен на колонке с силикагелем в ступенчатом градиенте в системе гексан-этилацетат с шагом 10 %, фракции собирались по 250 мл. По результатам ТСХ фракции были объединены до получения трех фракций. Полученные фракции были очищены при помощи обращено-фазового сорбента силикагеля С-18 и разделены при помощи ВЭЖХ с использованием обращено-фазовых колонок YMC-Pack ODS-AM в системе метанол-вода (60:40), Phenomenex Hydro в системе ацетонитрил-вода (55:45) и хиральной YMC NEA (R)-NP в системе ацетонитрил-вода (50:50) до выделения соединений **1–3**. Структуры выделенных соединений были идентифицированы как известные грибные метаболиты эмодин антрон (**1**), 4-гидроксиэмодин антрон (**2**) и алоэсон (**3**) (Рисунок 1) при помощи масс-спектрометрии высокого разрешения и 1D и 2D ЯМР-спектроскопии.



Рисунок 1 – Структуры выделенных индивидуальных соединений

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075–15-2021-1052.

Ссылки:

1. Carroll A.R. et al. // Nat. Prod. Rep. 2021. V. 38, N. 2. P. 362-413.
2. Rateb M.E. et al. // Nat. Prod. Rep. 2011. V. 28, N. 2. P. 290-344.

Биосинтетические возможности морских микроскопических грибов

А.Н. Юрченко

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова, ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: yurchenkoan@piboc.dvo.ru

Грибы представляют собой одну из самых крупных и разнообразных групп живых организмов. Хотя, по оценкам, существует от 5 до 6 миллионов видов грибов, охарактеризована лишь небольшая часть этих микробов. Более того, еще меньшая часть охарактеризованных штаммов грибов была изучена на предмет их биосинтетического потенциала [1].

В Лаборатории химии микробных метаболитов ТИБОХ ДВО РАН грибы, выделенные из различных морских субстратов, изучаются около 25 лет. За этот период были детально изучены биосинтетические способности около 80 штаммов, выделено более 400 индивидуальных соединений, в том числе около 200 новых. Большинство из полученных метаболитов являются продуктами действия различных поликетидсинтаз, которые зачастую отвечают за биосинтез не только «классических» поликетидов, но и многих соединений смешанного биогенеза: меротерпеноидов и некоторых классов алкалоидов. В отличие от растений, подавляющая часть ароматических соединений грибов является продуктами поликетидного пути биосинтеза. Нерибосомальные пептидсинтазы являются ключевым элементом в биосинтезе большинства алкалоидов, второго по распространению класса грибных метаболитов, а также низкомолекулярных пептидов. Продукция терпеноидных соединений заметно отстает от поликетидов и алкалоидов, хотя отдельные изопреноидные единицы являются обычными элементами грибных метаболитов различных химических классов.

Биосинтез вторичных метаболитов находится под контролем генов, собранных в биосинтетические генные кластеры. Изменение активности этих кластеров может происходить в ответ на какие-либо внешние или внутренние воздействия, что, в свою очередь, отражается на продукции вторичных метаболитов. Понимание этих взаимосвязей позволяет получать новые соединения при изменении условий культивирования грибов.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075–15-2021-1052.

Ссылки:

1. Munusamy M. et al. // Int. J. Mol. Sci. 2023. V. 24, N. 2. P. 1033.

**Биологическая роль и возможности практического применения
метаболитов морских грибов**

Е.А. Юрченко, Е.А. Чингизова, Д.Л. Аминин

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
электронная почта: eyurch@piboc.dvo.ru

Воздействие физических факторов окружающей среды и взаимодействие между микроорганизмами в сообществах – это те вызовы, к которым приходится адаптироваться их участникам, в том числе с помощью синтеза вторичных метаболитов, действующих напрямую или выполняющих функции регуляторов разнообразных метаболических путей. С помощью антимикробных, цитотоксических и фитотоксических экзометаболитов грибы могут контролировать свое окружение и бороться за «место под солнцем», а соединения с цитопротективными свойствами, в первую очередь антиоксидантными, позволяют грибам защищаться от воздействия других участников микросообществ или физических факторов.

Ингибиторы фермента инозин-5'-монофосфат дегидрогеназы 2 (IMPDH2) вызывают торможение деления клеток, что обеспечивает контроль грибов за эукариотическим окружением в микробиальном сообществе. К таким метаболитам относятся, например, широко известная микофеноловая кислота и ее многочисленные производные, а также висмион Е и другие. Модуляторы системы чувства кворума (quorum sensing) бактерий, продуцируемые грибами, приводят к предотвращению образования биопленок и угнетению их жизненного цикла. Уреаза – фермент, продуцируемый некоторыми бактериями для модификации окружающей среды, богатой мочевиной, и грибы продуцируют ингибиторы этого фермента для подавления жизнеспособности бактерий. Также грибы могут продуцировать бактерицидные соединения, например, ингибирующие синтез пептидогликанового слоя бактериальной стенки (пенициллины, цефалоспорины), или бактериостатические соединения, негативно влияющие на клеточное дыхание (рокфортин С и его производные). Меланин и его производные синтезируются преимущественно в ответ на УФ облучение и действуют как «ловушки» для свободных радикалов и активизируют антиоксидантную защиту грибов. Способность связывать свободные радикалы описана и для многих других грибных метаболитов. Разнообразные поликетиды также способны активировать Nrf2/Keap1 антиоксидантную систему млекопитающих. Транскрипционный фактор Nrf2 имеет значительное структурно-функциональное сходство с транскрипционным фактором AP1, экспрессируемым в грибах, что указывает на то, что и для самих грибов эти соединения являются антиоксидантами. Интересно, что антиоксидантные свойства некоторых грибных метаболитов были открыты значительно позже их высокой токсичности для клеток млекопитающих, как было в случае с афлатоксином. Несколько грибных метаболитов (терреин, оксирапентин J и диорцинол J) были открыты как индукторы повышенной экспрессии белка теплового шока Hsp70, обладающего шаперонной активностью.

Такая биологическая роль делает грибные метаболиты перспективными для получения новых антимикробных, антипролиферативных и цитопротективных лидерных молекул.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075–15-2021-1052.

**Расчет термодинамических параметров комплексообразования
модифицированных олигонуклеотидов с применением метода взвешенных гистограмм
при анализе молекулярно-динамических траекторий**

И.И. Юшин^{1,2}, В.М. Голышев^{1,2}, А.А. Ломзов^{1,2}

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

²Новосибирский государственный университет

Электронная почта: i.yushin@g.nsu.ru

Производные и аналоги нуклеиновых кислот в настоящее время активно используются в качестве инструментов при решении разнообразных прикладных задач. Множество функциональных групп, которые можно ввести в различные положения олигонуклеотидов, обеспечивают разнообразие физико-химических, молекулярно-биологических и других функциональных свойств. Одними из основных характеристик производных нуклеиновых кислот является их способность и эффективность взаимодействия с комплементарными последовательностями нуклеиновых кислот. Для рационального дизайна олигонуклеотидных конструкций и их эффективного применения необходима разработка подходов прогнозирования их гибридационных свойств.

В настоящее время перспективными для изучения биополимеров являются методы компьютерного моделирования. Среди них можно выделить такие как: квантово-химические расчеты, методы молекулярного докинга, метод молекулярной механики и динамики и др. Метод молекулярной динамики (МД) позволяет все более точно воспроизводить экспериментальные данные при проведении *in silico* исследований различных свойств биополимеров и их комплексов.

В данной работе исследована возможность расчета энергии образования дуплексов, сформированных ДНК с комплементарными цепями ДНК, фосфорилгуанидиновых олигонуклеотидов и пептидил нуклеиновых кислот различной длины и нуклеотидного состава. Траектории для анализа были получены методом зонтичной выборки (*umbrella sapling*) и проанализированы с использованием метода взвешенных гистограмм (WHAM). Проведен анализ результатов моделирования в разных силовых полях при расчетах биомолекулярных систем в явной и неявной водной оболочках. Проанализированы структурные параметры систем, содержащих модифицированные олигонуклеотиды. Рассчитанные значения свободной энергии Гиббса при различных температурах использовали для вычисления энальпийного и энтропийного вкладов в свободную энергию Гиббса формирования дуплексов, а также были рассчитаны температуры плавления дуплексов ($T_{пл}$).

Отработана процедура расчета гибридационных свойств модифицированных олигонуклеотидов с использованием метода взвешенных гистограмм. Подобраны оптимальные параметры для проведения моделирования для расчета термодинамических параметров комплексообразования. Используемый нами метод компьютерного моделирования показал высокую эффективность и достаточно высокую достоверность прогностического расчета. Наблюдается хорошая корреляция между термодинамическими параметрами, полученными с использованием метода WHAM и экспериментально.

Исследование поддержано в рамках государственного задания ИХБФМ-СО-РАН № 121031300042-1

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Абдулхаков Р.А.	78	Герцен М.М.	96
Абдулхаков С.Р.	56, 61, 78	Гладких И.Н.	85, 97, 118
Агеенко Н.В.	65	Глумакова К.А.	98
Адамов Г.В.	33	Глупов В.В.	37, 60, 74, 83
Аксёнов-Грибанов Д.В.	30, 39	Глухова Л.Б.	46, 47
Алейнова О.А.	23, 66, 67, 82	Гольшев В.М.	130
Алексеев И.В.	76	Гомжина М.М.	34
Аликина Т.Ю.	60	Гондаренко Е.А.	99
Аминин Д.Л.	129	Горбунов А.А.	84
Ананьев А.А.	23, 66, 67, 82	Горина С.Ю.	100
Антонец Д.В.	32	Гречишникова Е.Г.	90
Ануфриев К.Э.	91	Григорьева Е.В.	70, 71
Артемченко А.С.	68, 83	Григорьева Т.В.	54, 56, 61, 78, 86
Артемьева А.М.	108	Гризанова Е.В.	58, 72, 77
Балабанова Л.А.	11	Громова Е.С.	117
Балдаев С.Н.	49, 69	Губайдуллин И.И.	84
Барашкова А.С.	120	Гузев К.В.	49
Белецкий А.В.	40	Гуляева А.Ю.	101
Белик А.А.	13	Давлетшин А.И.	80
Белов Ю.А.	13	Далинова А.А.	102
Белоусова И.А.	88	Данилова Н.А.	56, 78
Бельшенко А.Ю.	30, 39	Данилова О.А.	54
Берестецкий А.О.	48, 102	Дворянинова Е.М.	16, 26
Беспалова А.В.	12	Демидов А.В.	51
Боднев С.А.	31	Демидюк И.В.	121
Боркунов Г.В.	93	Демкин В.В.	79
Бueva О.В.	57	Дербиков Д.Д.	35
Булушова Н.В.	84	Дидыч Д.А.	76
Булыгина Е.А.	54, 56, 61, 86	Дмитриев А.А.	16, 26
Буров А.В.	70, 71	Дмитриева М.Е.	30, 39
Бурьгин Г.Л.	92	Долгих В.А.	25
Быстрицкая Е.П.	14, 28, 49, 105	Дорофеева Л.В.	51
Вагнер Е.Н.	122	Дреничев М.С.	98
Ведерникова В.О.	87, 94, 98	Дубовик В.Р.	102
Владимиров Г.К.	109	Дубовский И.М.	58, 73, 77
Власов А.В.	104	Евгеньев М.Б.	24
Власова А.А.	30, 39	Евтушенко Л.И.	51, 57
Власова А.Ю.	103	Еремеев В.И.	36, 64
Власова К.Г.	46	Ершов Н.И.	31
Воейкова Т.А.	103	Жангисина С.	37
Волкова М.В.	84	Жидков М.Е.	87
Волнин А.А.	33	Журавлева О.А.	103
Володяев И.В.	109	Журавлева О.И.	123
Воробьев Д.А.	95	Закусина А.В.	38
Галямина М.А.	121	Захарова Е.Е.	52
Ганчева М.С.	29	Земская А.С.	94
Гарбуз Д.Г.	80	Зенченко А.А.	98
Гарифуллина Э.И.	15	Зилов Д.С.	15
Гасич Е.Л.	34	Иванов Г.А.	98

**Всероссийская научная школа-конференция молодых ученых и студентов
«Генетические технологии в исследованиях природных соединений»**

Иванов Н.В.	17	Крюков В.Ю.	32, 42, 60, 83
Иващенко А.И.	18, 69, 105	Крюкова Н.А.	74, 83
Иващенко С.Д.	104	Кузубова Е.В.	20, 119
Ившина И.Б.	75, 113	Кузьмич А.И.	76
Ильин И.Е.	49	Куликова Д.А.	12
Ильина И.В.	113	Кулинич С.В.	39
Ильина М.А.	15	Куриленко В. В.	45
Имидоева Н.А.	30, 39	Курина А.Б.	108
Исаева К.В.	69, 105	Лавров К.В.	90
Исаева М.П.	14, 18, 19, 28, 36, 49, 69, 85, 97, 105	Лайков А.В.	56, 86
Кабиллов М.Р.	60	Лайков Я.В.	21
Кабирова Э.М.	32	Лапидус А.Л.	22
Кадников В.В.	40, 52	Лебедев Т.Д.	98
Казаков А.А.	79	Левченко И.Н.	109
Казанцева Д.И.	106	Лейченко Е.В.	85, 97, 110, 115, 118
Казарцев И.А.	48	Лещенко Е.В.	93, 111, 127
Калина Р.С.	97	Линге И.А.	76
Калинина Т.И.	91	Ломзов А.А.	107, 130
Канарская М.А.	107	Лукина А.П.	46, 47, 52
Карасева М.А.	121	Лукина Е.Г.	48
Карначук О.В.	40, 46, 47, 52	Лучникова Н.А.	113
Карпенко А.Д.	21, 95	Лысак Л.В.	57
Карпов В.Л.	70, 71, 81	Лысюк П.А.	49
Карпов Д.С.	80	Любецких Е.А.	77
Кветкина А.Н.	115	Ляховченко Н.С.	112
Килочек А.И.	103	Мазур Д.В.	99
Ким С.-Г.	14	Малеева Т.Г.	71
Киричук Н.Н.	41, 93	Мальгина Е.В.	30, 39
Киселев К.В.	23, 65, 66, 67, 82	Мальцева П.Ю.	113
Клементьева Т.Н.	37, 68, 74, 83	Марданов А.В.	40
Климович А.А.	97, 118	Маркелова М.И.	54, 56, 61, 78, 86
Кожевникова Ю.В.	118	Мартемьянов В.В.	31, 88
Козлов Д.Г.	84	Маряшкина Т.В.	79
Козлов М.В.	94	Матвеева А.А.	80
Козлов С.А.	97	Мелькина О.Е.	89, 122
Кокоулин М.С.	105	Мельникова Н.В.	16, 26
Кокшарова О.А.	122	Михайлов В.В.	45, 49
Коломыцева М.П.	100	Монастырная М.М.	97
Комарова Л.П.	75	Моргунова М.М.	30, 39
Кондратьева Л.Г.	76	Морозов А.В.	24, 70, 71, 81
Константинов А.В.	63	Морозова В.В.	42
Копеева М.Ю.	84	Мясникова С.Б.	33
Корокин М.В.	20, 119	Небогатиков В.О.	24
Косенко Н.Р.	35	Недашковская О.И.	14, 18, 45, 105
Косман Е.С.	32, 42	Нестеренко Л.Е.	114
Кренгауз М.Д.	87	Никитина Е.А.	47
Криворучко А.В.	75	Нитяговский Н.Н.	23, 66, 67, 82
Крокунова Т.Е.	43	Новиков А.Д.	90
Круговых А.А.	44	Носков Ю.А.	32, 42
Крупская В.В.	38	Огнева З.В.	23, 67
Крылова Н.В.	13	Одинцова Н.А.	65
Крыцына Т.И.	77	Орлова Т.Ю.	50

**Всероссийская научная школа-конференция молодых ученых и студентов
«Генетические технологии в исследованиях природных соединений»**

Осипов С.Д.	104	Синягина М.Н.	54, 56, 61, 78
Ословский В.Е.	98	Смирнов И.П.	121
Оспенников Ю.В.	51	Смирнова Н.С.	60
Отставных Н.Ю.	14, 18, 28, 36, 49, 85	Смирнова П.А.	87
Павленко А.П.	115	Соколянская Л.О.	47
Пантелеев С.В.	63	Соловьева А.Е.	108
Парфенова А.С.	116	Соляникова И.П.	112
Переломов Л.В.	96	Спасская Д.С.	24, 80
Персиянова Е.В.	13	Спирин П.В.	87, 94, 98
Петров А.С.	117	Старновская С.С.	123
Пивкин М.В.	41	Стародумова И.П.	51, 57
Плохих К.С.	84	Старчевская М.Е.	32
Плюта В.А.	122	Субботин С.А.	51, 57
Побегуц О.В.	121	Субботина А.О.	88
Повхова Л.В.	16, 26	Супрун А.Р.	66, 67, 82
Поленогова О.В.	37, 42, 68, 74, 83	Тарлачков С.В.	51, 57
Полинова А.И.	84	Тельнова Т.Ю.	30
Попкова Д.В.	85	Терещенко Д.С.	58
Попова А.В.	35	Тетерина Е.В.	24
Попова М.А.	15	Тимирбаев К.Б.	59
Потапова Н.А.	30	Толпешта И.И.	38
Прасолов В.С.	87, 94, 98	Томилова О.Г.	60
Прийменко Н.А.	118	Трофимова М.Ф.	27
Присяжная Н.В.	51	Тряпкин О.А.	87
Пушкова Е.Н.	16, 26	Тюрин М.В.	60
Равин Н.В.	40	Тютяева В.В.	80
Радченко А.И.	20, 119	Усольцев С.Д.	126
Рахманов Т.Р.	15	Устюгов А.А.	24
Резвых А.П.	24	Фишман В.С.	32
Ренфельд Ж.В.	100	Фуников С.Ю.	12, 24
Рогожин Е.А.	120	Хархасова И.А.	63
Рожмина Т.А.	16, 26	Хмель И.А.	122
Розанцева В.В.	91	Хмель О.О.	124
Романенко Л.А.	36, 45, 53, 64	Холошенко И.В.	125
Романова В.А.	86	Худякова Ю.В.	41
Роцкая У.Н.	32, 42	Хуснутдинова Д.Р.	54, 61
Русанов И.И.	52	Цыбулько Н.С.	33
Рябов Ю.А.	25	Цыганов В.Е.	62
Савин П.С.	33	Чапров К.Д.	24, 119
Савичева Ю.В.	36, 53, 64	Чаусова В.Е.	28, 41, 49, 93
Салахутдинов Н.Ф.	113	Чеботарь В.К.	29
Санникова Е.П.	84	Чепурина А.А.	112
Сафронова В.И.	62	Чепцов В.С.	38
Светлова А.О.	121	Черенкова А. В.	89
Семейкина Л.М.	13	Черных А.М.	100
Сенина А.М.	54, 61	Чижевская Е.П.	29
Сергеев А.В.	117	Чингизова Е.А.	41, 123, 124, 129
Серкина А.В.	84	Чумакова Я.Ю.	42
Сигова Е.А.	26	Шабанская К.А.	71
Сидорова Д.Е.	122	Шатило А.Г.	126
Синеокий С.П.	55	Шевко В.Н.	63
Синцова О.В.	85, 118	Шевцова С.Е.	64

**Всероссийская научная школа-конференция молодых ученых и студентов
«Генетические технологии в исследованиях природных соединений»**

Шелковникова В.Н.	30, 39	Юрченко А.Н.	114, 123, 124, 128
Шелухина И.В.	125	Юрченко Е.А.	93, 114, 129
Шемякина А.О.	90	Юшин И.И.	130
Шереметьева М.Е.	43, 91	Якимова М.Е.	31
Шлык Н.П.	127	Яненко А.С.	35, 90, 91
Шустикова Т.Е.	43	Ярославцева О.Н.	32, 42, 60
Щелканов М.Ю.	13		

ООО «Компания Хеликон» – один из ведущих российских поставщиков лабораторного оборудования, реагентов и расходных материалов с 1997 года.

Компания оказывает комплекс услуг и сопровождает Клиентов на всех этапах — помогает в проектировании лабораторий, подбирает и доставляет необходимую продукцию, проводит пуско-наладку оборудования, обучает персонал на местах, обеспечивает квалифицированное сервисное обслуживание.

20 000+

наименований
продукции

60+

производителей



Развитая логистическая
и складская сеть



доставка
в кратчайшие сроки

Направления деятельности:

- Молекулярная и клеточная биология.
- Клиническая диагностика.
- Ветеринария.
- Пищевая безопасность.
- Агрогеномика.
- Биоиндустрия.
- Криминалистика.



Для своих ключевых клиентов Компания предоставляет возможность тестирования продукции до принятия решения о покупке.

«Компания Хеликон» также имеет собственную производственную базу и выпускает лабораторное оборудование, расходные материалы и мебель под торговой маркой Helicon.

Региональные представительства Компании находятся в Санкт-Петербурге, Новосибирске, Казани, Ростове-на-Дону, Владивостоке и Екатеринбурге.

helicon

ЛУЧШИЕ РЕШЕНИЯ ДЛЯ ЛАБОРАТОРИИ

Единый телефон

8 800 770 71 21

бесплатный звонок по России

Адрес: 121374, Москва,
Кутузовский проспект, д. 88

E-mail: mail@helicon.ru

Сайт: www.helicon.ru





Оборудование, реагенты и расходные материалы для лабораторий

Компания Русмедторг оказывает консультации по оснащению лабораторий и осуществляет подбор оборудования под цели заказчика.



BIOFIL

BIOLOGIX



Servicebio



**BIOER
TECHNOLOGY**

Технологии будущего – результат сегодня!



Лаборатория молекулярной биологии

Амплификаторы;
Автоматические станции для выделения и очистки нуклеиновых кислот;
Камеры для электрофореза;
Наборы для выделения и очистки нуклеиновых кислот;
ПЦР-наборы;
Пластик для ПЦР.

Лаборатория клеточной биологии

Среды культуральные;
Сыворотки;
Культуральный пластик;
Антитела для иммуоцитохимии;
Криоконсервация.

Лаборатория протеомики

Хемидокументирующие системы;
Камеры для электрофореза;
Реагенты для блоттинга.

Для всех лабораторий

Дозаторы;
Наконечники для дозаторов;
Штативы;
Серологические пипетки;
Пипетки Пастера.

Контакты

Москва: biomol@rmedtorg.ru, +7 (800) 777-85-79, +7 (916) 776-95-67

Новосибирск: nsk@rmedtorg.ru, +7 (966) 372-55-03

Казань: kazan@rmedtorg.ru, +7 (968) 490-47-47



Мировые бренды

для научных
открытий



Реагенты и оборудование

для молекулярной
и клеточной биологии,
генной инженерии



SkyGen

Вдохновляем на научные открытия!



Новые направления:

ветеринария,
клинико-лабораторная
диагностика, фармацевтика,

info@skygen.com

www.skygen.com

8 (800) 333-12-26



Установка и сервис

оборудования
от проверенных
производителей

skyklad

ОНЛАЙН-ПЛОЩАДКА ТОВАРОВ ДЛЯ ЛАБОРАТОРИЙ

- Быстрая доставка по всей России от 3-х дней
- Товары со складов разных поставщиков объединены на одной площадке
- Простое оформление заказа и онлайн оплаты



www.klad.skygen.com

| 8 800 500 94 42

| klad@skygen.com

КОМПАНИЯ ПРОФИЛАБ ГРУПП

ДОСТАВЛЯЕТ
ВЫСОКОТОЧНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ,
РАСХОДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ
В ЛЮБУЮ ТОЧКУ РОССИИ!



Скидка 10 % по промокоду Владивосток 10

СОВЕРШАЙТЕ НАУЧНЫЕ ОТКРЫТИЯ
С ПРОФИЛАБ ГРУПП!

Ссылка на каталог:



www.pfgroup.ru

+7 (812) 677 52 65

info@pfgroup.ru

СПОНСОР



ООО Промышленно-торговая фирма
«Корпус»

г. Владивосток, ул. Дальзаводская, 27 «Б», тел/факс (423) 2222-616
E-mail: 222616@ptf-korpus.ru сайт www.ptfkorpus.ru
<http://vladivostok.simple-pro.com> (сайт по лабораторной мебели)

*Поставка аналитического и лабораторного оборудования,
гарантийное и постгарантийное обслуживание. Оптимальные
решения для лабораторий.*



➤ Оборудование для молекулярно-генетических исследований

Секвенаторы, амплификаторы, оборудование для электрофореза



➤ Общелабораторное оборудование и приборы

Центрифуги, шейкеры, весы, микроскопы, дозаторы, рН-метры/ионометры, сушильные шкафы, печи муфельные, термостаты, дистилляторы, системы криохранения



➤ Лабораторная посуда, реактивы и расходные материалы



➤ Лабораторная мебель