

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИИ
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
ПРАВИТЕЛЬСТВО НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ
КОМИССИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДЕЛАМ ЮНЕСКО
НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**МАТЕРИАЛЫ
55-Й МЕЖДУНАРОДНОЙ
НАУЧНОЙ СТУДЕНЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ**

«Студент и научно-технический прогресс»

16–20 апреля 2017 г.

**ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУКАХ И
МАТЕРИАЛОВЕДЕНИИ**

**Новосибирск
2017**

Исследование обратной связи в системе “организм человека – внешний нагреватель” методом инфракрасной термографии высокого разрешения

Шепелин А. В.

Новосибирский государственный университет
Институт физики полупроводников им. А. В. Ржанова СО РАН

Эффективным способом изучения свойств физических объектов является воздействие на них, получение ответной реакции, систематизация выходных данных и построение теории на основе результатов отклика. Данный алгоритм использует концепцию *обратной связи*, где в роли изучаемого объекта чаще всего выступает “чёрный ящик”, то есть объект, детальное устройство которого неизвестно и, часто, очень сложно [1].

В настоящей работе “чёрным ящиком” служил человек. Входными сигналами являлись локальные нагрев и охлаждение его конечностей, реализуемые с помощью плоского нагревателя и модуля Пельтье, а также модуляция дыхания, заданная метрономом. Выходными – температура кожи и частота спонтанного дыхания. В качестве оптимального средства, позволяющего измерить оба этих отклика одновременно, был применен метод скоростной инфракрасной термографии – матричное тепловидение.

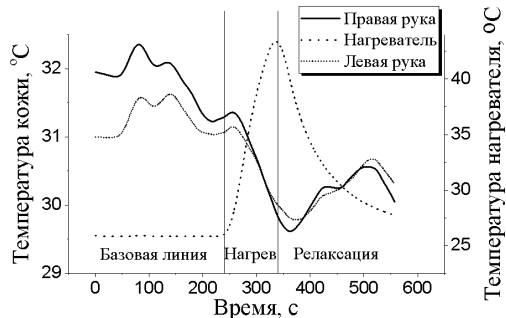


Рис. 1. Температурная реакция обеих конечностей при нагреве одной.

Из графика рис. 1 видно, что при **нагреве** правого предплечья температура пальцев **обеих** рук **понижается**, а по окончании нагрева начинает повышаться, что демонстрирует отрицательную обратную связь. Доказана состоятельность и перспективность подхода обратной связи для изучения системных реакций организма человека физическими методами.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 15-02-070680).

Морфологическая характеристика популяции тромбоцитов при помощи сканирующей проточной цитометрии.

Литвиненко А. Л.

Новосибирский государственный университет

Диагностика системы гемостаза является одной из актуальных проблем современной медицинской диагностики. Причиной может являться огромная сложность данной системы. Она включает в себя множество белков, а также специальные элементы крови - тромбоцитов. В следствии этого, возможные нарушения весьма разнообразны, но все они приводят к схожим внешним проявлениям.

Тромбоциты являются ключевыми элементами системы гемостаза, т.к. участвуют не только в механической закупорке повреждений в сосудах, но и в биохимическом ответе на данное событие. Сами тромбоциты способны находится в нескольких состояниях, характеризующихся как биохимическими, так и морфологическими признаками. Переход из одного состояния в другое является процессом непрерывным, а конечное состояние каждого тромбоцита зависит исключительно от его реакционной способности и связано с концентрацией ионов кальция в эндоплазматическом ретикулуме. Реакционная способность имеет прямое влияние на морфологии тромбоцитов.

Исследование морфологии тромбоцитов в данной работе проводилось с использованием сканирующего проточного цитометра. Данный прибор способен регистрировать сигнал светорассеяния от частицы в диапазоне углов от 10 до 70 градусов. После решения обратной задачи светорассеяния, можно получить данные о форме каждого измеренного тромбоцита с достаточной точностью. Достоинством этого метода является возможность исследовать большое количество тромбоцитов за сравнительно небольшое время.

В результате были получены распределения нативных тромбоцитов по индексу формы. Полученная информация может помочь в оценке рисков развития серьезных патологий гемостаза, связанных с тромбоцитами.

Научный руководитель - канд. физ.-мат. наук Некрасов В. М.

Компьютерно-экспериментальное исследование ответа клеток человека на механический стресс, вызванный повышенным давлением.

Кузин В. Ф.

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

Повышенное давление на ткани человека часто является механизмом возникновения и прогрессирования многих заболеваний. В частности, механический стресс приводит к разрушению зрительного нерва при глаукоме, повышению инвазивности раковых клеток твердых опухолей. В настоящее время не существует препаратов, специфически регулирующих ответ клеток на механический стресс. Одним из перспективных путей фармакологической регуляции ответа клетки на механический стресс является воздействие на белки или гены (мишени), одновременно участвующие в ответе клеток на механический стресс и клеточной гибели.

Решение данной проблемы с использованием компьютерно-экспериментальных методов является целью данной работы. Биоинформатическое исследование заключалось в построении генных сетей апоптоза и механического стресса в системе реконструкции генных сетей ANDSystem и в последующем анализе экспрессионного профиля клеток при различных механических воздействиях с целью поиска дифференциально экспрессированных генов.

Для проведения экспериментальной работы был сконструирован специализированный прибор, предназначенный для культивирования клеток в условиях повышенного давления. Повышенное давление создавалось в герметичной камере при помощи мембранного компрессора с электродвигателем, камера регулярно продувалась для поддержания нужного уровня CO₂. Весь прибор собирался на базе платформы Arduino. Последующая оценка выживаемости клеток проводилась при помощи МТТ-теста.

В результате работы были построены генные сети ответа клетки на механический стресс и клеточной гибели и разработан метод выявления генов, связанных одновременно с механическими воздействиями на клетку и апоптозом; найдены дифференциально экспрессирующиеся гены при наложении механического стресса на клетку; разработан и построен прибор для культивирования клеток условиях повышенного давления.

Научный руководитель – канд. биол. наук, доцент Иванисенко В. А.

**Изучение влияния геометрических параметров острия зонда
атомно-силового микроскопа на результаты атомно-силовой
спектроскопии одиночных молекул**

Красулина А. Н.

Новосибирский государственный университет

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии
«Вектор»

Атомно-силовой микроскоп (АСМ) позволяет осуществлять прямые измерения сил, действующих между одиночными макромолекулами. Данную технику называют атомно-силовой спектроскопией (АСС). Для выполнения соответствующих измерений макромолекулы должны быть закреплены на острие зонда АСМ и на подложке, к которой многократно подводится и отрывается зонд. Первичным результатом АСС является массив силовых кривых – зависимостей силы, действующей на зонд, от расстояния до подложки. На данных кривых выделяют области, соответствующие растяжению и разрывам молекулярных пар, по которым определяют пиковые значения силы и скорость нагружения ($loading\ rate = \frac{dF}{dt}$).

Разработана оригинальная методика модификации зондов АСМ, основанная на технике селективного травления, которая позволяет обеспечить геометрическую локализацию одиночных макромолекул на острие зонда АСМ. Результаты модификации зондов контролировали методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Был выполнен цикл силовых измерений для молекулярной системы авидин-биотин для двух вариантов функционализации зондов – разработанная методика и классический протокол ковалентной пришивки с использованием глутарового альдегида. Показана работоспособность предложенной методики.

Все зонды АСМ, использованные в силовых измерениях, были визуализированы методом ПЭМ. По снимкам оценены площади контактов и возможные количества взаимодействовавших молекулярных пар. Полученные данные сопоставлены с результатами силовых измерений. Научный руководитель – канд. физ.-мат. наук Корнеев Д.

Самоограниченные комплексы - перспективные ген-направленные агенты. Физико-химическое исследование.

Кизилова В. А.

Новосибирский государственный университет

Олигонуклеотиды – короткие синтетические фрагменты нуклеиновых кислот (НК), широко применяют для изучения молекулярно-биологических процессов. Благодаря их способности формировать комплементарные комплексы можно конструировать структуры со всевозможной пространственной геометрией (например, ДНК-оригами [1]). Линейные полимерные комплексы (конкатамеры), сформированные одним или несколькими олигонуклеотидов, являются примером таких структур. Ранее [2] было показано, что введение в центральную часть олигонуклеотида гибкого линкера приводит к значительному изменению размеров модифицированных конкатамеров относительно немодифицированных.

Мы предположили, что в данном случае возможно формирование самоограниченных комплексов. Для подтверждения этого была построена термодинамическая модель и произведена ее экспериментальная проверка методами термической денатурации с оптической регистрацией сигнала и задержки в геле. Показана возможность и определена эффективность формирования самоограниченных комплексов в зависимости от природы и размера линкеров. методом молекулярной динамики подтверждено образование таких самоограниченных структур. Впервые продемонстрировано, что самоограниченные комплексы могут быть использованы в качестве ген-направленных агентов, например, выступать в качестве искусственной рибонуклеазы в присутствии ионов Mg^{2+} . Экспериментальная проверка подтвердила предложенную гипотезу. Таким образом, проведено физико-химическое исследование формирования самоограниченных комплексов и показана их перспективность в качестве терапевтических агентов.

Работа поддержана грантами ФИМТ 154 и ПФНИ ГАН на 2017-2020 гг. (VI.62.1.4, 0309-2016-0004).

-
1. Kuzuya A., Komiyama M. DNA origami: fold, stick, and beyond //Nanoscale. – 2010. – Т. 2. – №. 3. – С. 309-321.
 2. Филиппов Н. С., Ломзов А. А., Пышный Д. В. Влияние олигонуклеотида-стоппера на размер и термическую стабильность конкатемерных комплексов // Вестник НГУ. Серия: Физика. – 2011. – Т. 6. – Вып. 4. – С. 104-115. – ISSN 1818-7994.

Научный руководитель – канд. физ.-мат. наук, Ломзов А. А.

Фагоцитарная активность моноцитов в ответ на индукцию метциллиноустойчивыми штаммами *Staphylococcus aureus***Д. И. Тюменцева***Сибирский федеральный университет, г. Красноярск*

Бактериальные инфекции являются серьезной проблемой здравоохранения. Развитие антибиотиков было значительным достижением в современной медицине. Однако, несмотря на это, бактериальные инфекции по-прежнему являются одной из основных причин смерти у людей. В настоящее время основными проблемными микроорганизмами являются β – лактамазы расширенного спектра (БЛРС), к которым относятся и золотистый стафилококк (MRSA). Однако, фагоцитоз играет важную роль при гнойно-воспалительных заболеваниях, особенно при стафилококковой инфекции.

Таким образом, целью исследования является изучение кислородозависимого и кислородонезависимого фагоцитоза моноцитов при воздействии метциллинрезистентных штаммов *Staphylococcus aureus*.

В результате проведенного исследования фагоцитоза было установлено, что моноциты крови усиливают продукцию активных форм кислорода в люминол-зависимой ХЛ при воздействии устойчивых штаммов *S.aureus* относительно MSSA. При этом интенсивность люцигенин-зависимой ХЛ снижена. Исследование люминол-зависимой ХЛ моноцитов крови при воздействии MRSA относительно MSSA увеличивается площадь под кривой, интенсивность и ИА, при этом эти показатели снижаются в люцигенин-зависимом процессе.

Исследования кислородонезависимого фагоцитоза популяций моноцитов показали, что фагоцитарное число классических, не классических, и промежуточных популяций моноцитов повышается при воздействии устойчивыми штаммами; а фагоцитарный индекс всех популяций, напротив, снижается при воздействии устойчивыми штаммами.

Таким образом, можно отметить, что классический тип моноцитов быстрее активизируется в ответ на MRSA. При этом не классические и промежуточные моноциты при низкой скорости фагоцитируют эффективнее.

Научный руководитель: д-р биол. наук, доцент О.А. Коленчукова

РАСШИРЕННАЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ ЧАСТИЦ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ИНДИКАТРИСЫ ОБРАТНОГО РАССЕЯНИЯ

Л. Б. Фролов

Институт химической кинетики и горения СО РАН
Новосибирский государственный университет

Одним из наиболее востребованных применений метода проточной цитометрии является исследование клеток крови. Регистрация сигналов светорассеяния и флуоресценции позволяет получить информацию о морфологии исследуемых частиц быстро и статистически достоверно. Обычный метод цитометрии основан на получении двух сигналов светорассеяния (рассеяние вперед и вбок) и нескольких сигналов флуоресценции. Однако данный подход не всегда оказывается достаточным в изучении поведения клеток крови, в частности агрегации тромбоцитов.

Уникальная методика сканирующей проточной цитометрии, позволяющая получить индикатрису светорассеяния частицы в диапазоне углов 10° - 70° , давала надежду на подробное исследование ранней кинетики агрегации тромбоцитов. В ходе исследования было показано, индикатриса светорассеяния в переднюю полусферу является недостаточно информативной для исследования агрегации. Математическое моделирование выявило, что дополнительный сигнал светорассеяния в заднюю полусферу (110° - 170°), то есть обратная индикатриса, является удовлетворительным и достаточным.

Ранее обратная индикатриса в методе сканирующей проточной цитометрии не регистрировалась. Для её получения прибор был доработан: изменению подверглись оптическая кювета и система гидрофокусировки струи пробы. В ходе работы были проведены испытания данной системы и показана её применимость в исследовании агрегации тромбоцитов.

Научный руководитель: А. Е. Москаленский к.ф.-м.н.

Гидродинамический расчет биологического реактора

Папаева Е. О.

ИТПМ СО РАН

Новосибирский государственный университет

Актуальной и нерешенной на данный момент является проблема регенерации костной ткани с использованием тканеинженерных конструкций. Для решения этой задачи на данный момент ведется разработка методики ведения тканеинженерных конструкций в вихревом биореакторе. В качестве основы для заселения клетками предлагается полотно на основе поликапролактона. Полотно заселяется клетками, а затем помещается в биореактор для дальнейшего культивирования. Чтобы улучшить качество культивирования конструкций, важно знать распределение касательного напряжения на поверхности образца в зависимости от частоты вращения. Для его оценки было проведено моделирование реактора с помощью Ansys Fluent.

Математическая модель представляет собой два соосных цилиндра, заполненных жидкостью, вращающихся друг относительно друга. Внутренний полый цилиндр представляет собой держатель, на который закрепляется полотно скаффолда, заселенное клетками. Были промоделированы два случая: вращение или внутреннего, или внешнего цилиндра. Кроме того, была построена модель с той же конструкцией, но уменьшенным в два раза зазором между стенкой внутреннего и внешнего цилиндра. Для всех моделей было исследовано вращение на пяти частотах (угловые скорости 8, 15, 30, 45, 60 оборотов в минуту).

В результате проделанной работы были визуализированы потоки жидкости внутри биологического реактора при условии вращения внутреннего и внешнего цилиндра. Построены распределения статического давления, скоростей течения жидкости, а так же касательного напряжения на внутренней и наружной стенке внутреннего цилиндра. Показано, что при вращении внутреннего цилиндра вихри Тейлора образуются в зазоре между цилиндрами, а при вращении внешнего цилиндра – в полости внутреннего цилиндра. Также отмечена эволюция вихрей Тейлора при увеличении частоты вращения. Получена зависимость касательного напряжения на внешней и внутренней поверхности внутреннего цилиндра от частоты вращения, позволяющая предсказывать значения касательного напряжения и оптимизировать режим работы биореактора.

Разработка метода количественного определения рецепторной специфичности вирусов гриппа А

Онхонова Г. С.

Новосибирский государственный университет

Грипп - это острая вирусная инфекция, которая может заражать млекопитающих, птиц и людей, является одной из основных причин заболеваемости и смертности. В процессе жизненного цикла вирионы проходят обязательную стадию - прикрепление к поверхности клетки-мишени. Для каждого вируса имеется специфический рецептор на поверхности чувствительных клеток, у вируса же есть белок, посредством которого он связывается с клеточным рецептором. У вируса гриппа это белок - гемагглютинин, а рецепторы на поверхности клетки - это гликолипиды или гликопротеины, которые содержат терминальные сиалирированные фрагменты. Структурное различие терминальных сиалирированных фрагментов, прикрепленных к галактозидазе, является основой определения специфичности связывания рецепторов. Существует две основные химические формы сиаловой кислоты ($\alpha 2,3$ и $\alpha 2,6$) и разные штаммы вируса гриппа отличаются сродством к ним. Штаммы вируса птичьего гриппа используют в качестве рецептора сиаловые кислоты со связью $\alpha 2,3$. Штаммы вируса человеческого гриппа преимущественно прикрепляются к сиаловым кислотам со связью $\alpha 2,6$.

Целью данной работы является разработка и оптимизация количественного метода измерения рецепторной специфичности вируса гриппа. С помощью конкурентного и прямого иммуноферментного анализа была исследована рецепторная специфичность трех штаммов вируса гриппа: A/rook/Chany/32/2015 (H5N1), A/Anhui/01/2013 (H7N9), A/California/7/2009 (H1N1). В качестве моделей клеточных рецепторов были использованы белки муцин и фетуин. С помощью модифицированного метода Диксона были посчитаны константы диссоциации для данных белков.

В ходе исследования было получено, что аффинность связывания штаммов вируса птичьего гриппа субтипов H5N1 и H7N9 с $\alpha 2,3$ сиаловыми кислотами больше, чем с $\alpha 2,6$, а аффинность связывания штамма вируса человеческого гриппа субтипа H1N1 с $\alpha 2,6$ выше, чем с $\alpha 2,3$. Аффинность связи штаммов вируса птичьего гриппа H5N1 и H7N9 с муцином на 2 и 4 порядка, соответственно, выше, чем с фетуином. Для штамма вируса человеческого гриппа значения приблизительно одного порядка.

Научный руководитель - канд. биол. наук Рыжиков А. Б.

**Поляризационные характеристики лазерного излучения отражённого
кожным покровом человека: методика измерения**

Ни Р. В

Национальный исследовательский Томский государственный университет

В настоящее время в биологии и медицине достаточно развит метод поляризационной диагностики, который реализуется путём облучения исследуемого участка биоткани линейно поляризованным излучением с последующей регистрацией рассеянного назад излучения. Интерес к этому методу обусловлен, прежде всего, простотой практической реализации и высокой чувствительностью поляризационных характеристик рассеянных оптических полей к оптическим свойствам рассеивающих сред. Анализ поляризационных характеристик рассеянного биотканями излучения в ряде случаев позволяет получить качественно новые результаты при исследованиях морфологического и функционального состояния биотканей, являющихся одним из важнейших направлений современной медицинской диагностики. Возможности поляризационной диагностики биологических структур продемонстрированы в работах по исследованию возможностей ранней диагностики катаракты хрусталика и оценки концентрации глюкозы в тканях больных диабетом [1].

Значительно больше информации о состоянии поверхностного слоя биоткани можно получить, если облучать участок исследуемой поверхности излучением с четырьмя различными поляризациями и, в каждом случае, измерять состояние поляризации рассеянного тканями излучения. Это позволит вычислить матрицу обратного рассеяния, которая содержит исчерпывающую информацию об исследуемой среде. В докладе анализируются особенности применения метода поляризационного лазерного зондирования для оперативной диагностики состояния кожного покрова. Этот метод разработан на кафедре оптико-электронных систем и дистанционного зондирования НИ ТГУ [2] и успешно используется для оперативной диагностики состояния атмосферных облаков.

1. Приезжев А.В. Лазерная диагностика в биологии и медицине / А.В. Приезжев, В.В. Тучин, Л.П. Шубочкин. - М., Наука, 1989.

2. Самохвалов И.В., Насонов С.В., Брюханов И.Д., и др.// Известия высших учебных заведений. Физика. 2013. Т. 56, №8/3. С. 281–283.

Научный руководитель – д-р физ.-мат. наук, проф. Самохвалов И. В.

Оценка протеомного профиля микровезикул В-лимфоцитов больных хроническим лимфолейкозом

Клюшова Л. С.

Новосибирский государственный университет

Внеклеточные везикулы играют ключевую роль в межклеточной сигнализации и являются специфичными признаками многих физиологических процессов – как нормальных, так и патологических, в том числе канцерогенеза. Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) – онкогематологическое заболевание, характеризующееся накоплением атипичных зрелых В-лимфоцитов. Выделяемые В-лимфоцитами везикулы могут выступать маркерами для диагностики и прогнозирования ХЛЛ. Они характеризуются различным протеомным составом, оценка которого имеет ряд методических трудностей.

Цель данной работы – подбор оптимальных условий пробоподготовки для масс-спектрометрического (МС) анализа микровезикул, включая выделение микровезикул, экстракцию белков, их ферментативный гидролиз и обессоливание проб, а также подбор условий для МС с предварительным разделением компонентов смеси на ВЭЖХ-системе.

На бычьем сывороточном альбумине было проведено сравнение условий для всех критических этапов протокола пробоподготовки In-solution Digestion. В качестве компонентов солиubilизации и денатурации белка сравнивались мочевины и дезоксирибозид натрия (SDC). Было установлено, что протокол с мочевиной дает большее покрытие последовательности белка и большее количество пептидных идентификаций. Также была подобрана оптимальная концентрация трипсина для ферментативного гидролиза. Пробы обессоливали с помощью носиков ZipTip и экстрагирующих дисков C₁₈. Перед трипсинизацией использовали концентраторы для увеличения количества белка в пробе.

Микровезикулы были выделены из крови больных ХЛЛ последовательным центрифугированием и верифицированы методом вестерн-блот. С помощью МС/МС-анализа с предварительным разделением пептидов на ВЭЖХ-системе были получены масс-спектры. Белки, идентифицированные с использованием программы Mascot, согласно базе данных Gene Ontology принадлежат микровезикулам.

Таким образом, был получен протокол пробоподготовки, который позволяет качественно оценить протеомный состав микровезикул.

Научный руководитель – канд. мед. наук Воронцова Е.В.

Исследование возможностей характеристики биомолекул методами эллипсометрии в терагерцовом диапазоне

Гусев В. А.

Институт ядерной физики им. Г. И. Будкера СО РАН, г. Новосибирск
Новосибирский государственный университет

Исследование биомолекул в терагерцовом диапазоне – перспективное направление современной спектроскопии. С одной стороны, поглощение излучения с субмиллиметровой длиной волны соответствует колебательным и вращательным спектрам нерегулярных биополимеров: нуклеиновых кислот и белков, а с другой, все измерения в данной области встречают трудности, такие как сильное поглощение водой (которая входит в состав большинства биологических образцов). На данный момент практически не существует методов, позволяющих измерить диэлектрическую проницаемость и гиротропию объемных водосодержащих растворов в данном диапазоне частот. В настоящей работе в качестве метода измерения показателей преломления и поглощения используется метод эллипсометрии.

Эллипсометрические измерения проводились на базе классической фотометрической схемы с вращающимся анализатором и использованием кремниевой призмы нарушенного полного внутреннего отражения для изучения сильнопоглощающих объектов. В качестве источника излучения был использован Новосибирский лазер на свободных электронах, генерирующий монохроматическое перестраиваемое по длине волны излучение в диапазоне от 5 до 240 мкм (60 – 1.25 ТГц).

Достигнута рекордная точность в измерении тестовых жидкостей (дистиллированная вода, стандартные растворители), а также проведены измерения гиротропии протеогликанов и ДНК.

Научный руководитель – канд. физ.-мат. наук Чопорова Ю. Ю.

**Картирование адаптивных замен относительно трехмерной
структуры белков вируса клещевого энцефалита при пассировании
на различных культурах клеток**

Гладышева А.В.

Новосибирский государственный университет
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово

Клещевой энцефалит (КЭ) является одной из самых распространенных и опасных природно-очаговых инфекций. В тоже время, вопрос генетической тождественности адаптированных лабораторных штаммов ВКЭ с природными вариантами ВКЭ, циркулирующими в очагах этой инфекции, остается фактически не исследованным.

Нами было проведено полногеномное секвенирование ВКЭ, выделенного из мозговой суспензии погибшего человека. Адаптацию ВКЭ к культивированию выполнили путем последовательных пассажей на культурах клеток почки эмбриона свиньи (СПЭВ), обезьяны (293) и нейроклетках (Neuro-2a). После третьего пассажа на клетках СПЭВ в геноме ВКЭ С11-13 были выявлены первые изменения, а к шестому пассажиру произошло 25 нуклеотидных и 8 аминокислотных замен. Аминокислотные замены были обнаружены в белках E (1 замена), NS1 (1), NS2a (1), NS3, (3) и NS5 (2). На культурах клеток 293 и Neuro-2a также были выявлены замены в генах кодирующих неструктурные белки ВКЭ. Ключевые аминокислотные замены были картированы относительно трехмерных моделей белков NS3 и NS5. Анализ моделей показал, что аминокислотные замены локализованы в активных центрах сериновой протеазы (NS3), геликазы и вирусной РНК зависимой РНК полимеразы (NS5). Было также обнаружено, что в гене NS3 замена гистидина на глутамин произошла со сменой заряда с положительного на отрицательный.

Исследование инфицированных клеток показало выраженную корреляцию эффективности репликации ВКЭ и накопления аминокислотных замен в NS3 и NS5 ВКЭ, в клетках при культивировании.

Научный руководитель - канд. биол. наук Терновой В.А.

-
1. Пономарева Е.П., Терновой В.А., Е.В., Гладышева А.В., и др. Обнаружение множественных аминокислотных замен в белках ВКЭ при адаптации высокопатогенного для человека изолята к культурам клеток// Archives of Virology (in publish)

Изучения влияния токолитических препаратов на функциональные характеристики эритроцитов

Вражкина Л.А.

Новосибирский государственный медицинский университет

Институт химической кинетики и горения

им. В.В. Воеводского СО РАН

При диагностике патологий беременности существует проблема выявления на ранних стадиях гипоксии плода. Вместе с преждевременными родами данная патология имеет высокие показатели перинатальной заболеваемости и смертности. Нарушение функциональных свойств эритроцитов матери является одним из факторов риска развития гипоксических состояний. Одной из основных характеристик, определяющих скорость кислородного обмена в организме, является анионная проницаемость мембраны эритроцита. Однако, влияние токолитических препаратов, используемых для снижения риска преждевременных родов, на анионную проницаемость эритроцитов не полностью изучена.

Данная работа посвящена исследованию воздействия токолитических препаратов (сульфат магния, гинепрал) и препаратов предназначенных для снижения гипоксических состояний (пентоксифиллин, дипиридамола) на анионный обмен эритроцитов и эластичность мембраны. В качестве образцов бралась венозная кровь в растворе EDTA. Эксперименты проводились на сканирующем проточном цитометре, регистрирующем картины светорассеяния от одиночных клеток в широком угловом диапазоне. Регистрация кинетики лизиса эритроцитов осуществлялась в изотоническом растворе хлорида аммония. Измерения занимали не более 3 часов от забора крови при 22°C.

В ходе исследований было замечено увеличение анионной проницаемости эритроцитов в присутствии растворенного сульфата магния, построена молекулярно-кинетическая модель процесса активации. Впервые измерены константы реакции активации анионных обменников. Также было зарегистрировано что функциональные характеристики эритроцитов не изменяются в присутствии токолитического препарата - гексопреналина.

Научный руководитель – д.физ.-мат. наук Мальцев В.П., Ястребова Е.С.

Оценка интенсивности и согласованности локальных изменений метаболизма головного мозга средствами фМРТ у пациентов с депрессией в ходе экспериментального лечения технологией адаптивной («биологической») обратной связи

Безматерных Д. Д.

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

Современный уровень развития функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ) позволяет реализовать немедикаментозную методику лечения аффективных расстройств (депрессий) – адаптивное биоуправление. Пространственное разрешение фМРТ позволяет с точностью до нескольких миллиметров идентифицировать активные участки мозга по повышению потребления кислорода. График изменения интенсивности сигнала региона интереса – конкретной церебральной области – может практически в реальном времени предъявляться испытуемым в виде понятной метафоры, что позволяет им методом проб и ошибок научиться управлять динамикой локальной активности головного мозга. При этом эффективность биоуправления напрямую зависит от точной идентификации регионов мозга, активность которых связана с выраженностью симптомов депрессии.

Цель работы – изучение особенностей функциональной организации мозга у пациентов с депрессией средствами фМРТ. Были сформированы две эквивалентные по половому составу, возрасту и интеллекту группы: 1) условно здоровых испытуемых и 2) лиц с депрессией. Внутри томографа участникам предъявлялись визуальные стимулы для провокации эмоциональных реакций: определение пола людей на фотографиях (с эмоциональной мимикой); классификация изображений на понравившиеся и не понравившиеся; определение эмоций людей на фотографиях (выбор из двух вариантов). Также были получены записи в состоянии покоя. Для определения надежности результатов через 2-4 месяца проводилась повторная регистрация.

Анализ массива полученных фМРТ-изображений позволил определить достоверные различия между группами в а) распределении и интенсивности активации структур мозга в ответ на каждую из задач; б) силе функциональных связей между церебральными регионами; в) сетевой организации (анализ независимых компонент сигнала) в состоянии покоя. Таким образом, результаты исследования позволили выявить картину изменений функциональной организации мозга при депрессии и выбрать мишени для биоуправления.

Научные руководители – д-р биол. наук, акад. РАН Штарк М. Б.
канд. биол. наук, Мельников М. Е.

Исследование механизмов транспорта твердых частиц из носовой полости в головной мозг методами МРТ

И. С. Щербаков

Институт цитологии и генетики СО РАН
Новосибирский государственный университет

Зональная организация обонятельной системы определяется не только особенностями экспрессии генов ольфакторных рецепторов, но и геометрией носового хода, где рецепторы к наиболее мукоорастворимым соединениям сосредоточены в области с максимальной скоростью воздушного потока (дорсальная часть), а рецепторы к менее летучим соединениям - в вентральной части носа. Увеличение скорости потока в носовой полости позволяет, с одной стороны, увеличить чувствительность ольфакторного эпителия к запаховым стимулам, с другой, увеличивает риск воздействия различных патогенов из воздушного потока, вследствие большей интенсивности их осаждения. В данном исследовании с помощью марганец-усиленной магнитно-резонансной томографии (МРТ) было установлено, что при интраназальном введении, нивелирующем влияние геометрии носовой полости, коллоидного раствора наночастиц оксида марганца (НОМ, Mn_3O_4) в вентральной части ольфакторного эпителия мышей происходит более интенсивный захват частиц, чем в дорсальной. Совместное введение НОМ и специфических блокаторов аксонального транспорта и эндоцитоза показало, что именно эти процессы играют ведущую роль в перемещении наночастиц из носовой полости в ольфакторные луковичи. При этом в дорсальной части ольфакторного эпителия, в отличие от вентральной, основной вклад в захват НОМ вносит клатрин-зависимый эндоцитоз. Ключевое значение эндоцитоза в дифференцировании дорсальной и вентральной областей подтверждает исследование транспорта из носовой полости в мозг ионов марганца, которые поступают в нервные окончания через кальциевые каналы и которые накапливаются с одинаковой интенсивностью в разных отделах ольфакторных лукович. Таким образом, две области ольфакторного эпителия мыши демонстрируют реципрокные отношения между интенсивностью осаждения субмикронных аэрозолей и эффективностью их захвата и транспорта в головной мозг, что позволяет ограничивать инфекционные и токсические воздействия наноаэрозолей на клетки ольфакторного эпителия и головной мозг.

Научный руководитель: канд биол. наук А. В. Ромашенко.

Влияние величины напряжённости электрического поля, ёмкости и сопротивления на эффективность переноса плазмидной ДНК в клетки эукариот с помощью электропорации

Кошман В. Е., Неустроева А. А.

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

В биологии и медицине широко распространены исследования, для которых необходима трансфекция – перенос ДНК в клетки эукариот. В настоящей работе исследуется один из физических методов проведения трансфекции – электропорация. В процессе электропорации импульсы электрического поля высокой напряженности и различной длительности воздействуют на клетку таким образом, что проницаемость её мембраны для ДНК сильно увеличивается. Если электрическая обработка не была чересчур интенсивной, после некоторого времени релаксации проницаемость мембран возвращается к исходному уровню. Одной из наиболее серьёзных проблем данного метода является высокая смертность клеток, которая закономерно приводит к понижению эффективности трансфекции. В поисках решения данной проблемы была проведена работа по оптимизации условий проведения электропорации на примере переноса плазмидной ДНК, кодирующей зелёный флуоресцентный белок в культивируемые клетки дрозофилы. Было исследовано влияние величины напряжённости электрического поля, ёмкости и сопротивления на эффективность трансфекции. Также, перед тем, как варьировать физические характеристики, был проведён ряд опытов, ставящих своей целью поиск оптимального буферного раствора для проведения основного эксперимента. В результате удалось значительно повысить эффективность трансфекции с 10% до 95% по сравнению с литературными данными [1, 2] и найти оптимальные условия для получения контролируемой экспрессии белка в клетке.

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

1. Park, J. H. et. al. Optimization of Transfection Conditions for Expression of Green Fluorescent Protein in *Drosophila Melanogaster* S2 Cells // *Enzyme and Microbial Technology*. – 1999. – №25. – P.558-563.

2. Cherbas, L., et. al. Transformation techniques for *Drosophila* cell lines // *Methods in Cell Biology*. – New York: Academic Press. – 1994. – Vol. 44. – P.161-179.

Научный руководитель – Яринич Л. А.

