

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ОТДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК
СЕКЦИЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ
НАУЧНЫЙ СОВЕТ РАН ПО БИОФИЗИКЕ
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ
ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ КЛЕТКИ РАН
ИНСТИТУТ ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОФИЗИКИ РАН
ИНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ РАН
ИНСТИТУТ ПРИКЛАДНОЙ ФИЗИКИ РАН
НИЖЕГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ им. Н.И. ЛОБАЧЕВСКОГО
МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ им. М.В. ЛОМОНОСОВА

IV СЪЕЗД БИОФИЗИКОВ РОССИИ

20-26 августа 2012 г.
Нижний Новгород
Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского

МАТЕРИАЛЫ ДОКЛАДОВ

Нижний Новгород • 2012

УДК 577.3

IV Съезд биофизиков России. Том V. Материалы докладов. – Нижний Новгород, 2012. – 41 с.

Представлены материалы IV Съезда биофизиков России.

Ответственный редактор: чл.-корр. РАН А.Б. Рубин

© Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 2012

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ:

Рубин А.Б., член-корр. РАН – сопредседатель
 Чупрунов Е.В., профессор, ректор ННГУ – сопредседатель
 Воденеев В.А., докт. биол. наук – зам. председателя
 Иваницкий Г.Р., член-корр. РАН – зам. председателя
 Фесенко Е.Е., член-корр. РАН – зам. председателя
 Штранкфельд И.Г., канд. биол. наук – ответственный секретарь

Артюхов В.Г., проф., д.б.н.	Колчанов Н.А., акад. РАН
Бурлакова Е.Б., проф., д.б.н.	Комаров В.М., проф., д.б.н.
Владимиров Ю.А., акад. РАМН	Крышталь О. А., чл.-корр. РАН, акад. НАН Украины
Волотовский И.Д., акад. НАН Белоруссии	Макаров А.А., акад. РАН
Гительзон И.И., акад. РАН	Монаселидзе Д. Р., проф., д.ф.-м.н.
Готтих Б.П., проф., д.х.н.	Никольский Н.Н., акад. РАН
Григорьев А.И., акад. РАН и РАМН	Островский М.А., акад. РАН
Гурбатов С.Н., проф., д.ф.-м.н.	Пирузян Л.А., акад. РАН
Гурский Г.В., чл.-корр. РАН	Ризниченко Г.Ю., проф., д.ф.-м.н.
Гусев Н.Б., чл.-корр. РАН	Розанов А.Ю., акад. РАН
Дегерменджи А.Г., акад. РАН	Савицкий А.П., проф., д.х.н.
Есипова Н.Г., к.ф.-м.н.	Твердислов В.А., проф., д.ф.-м.н.
Заалишвили М. М., акад. АН Грузии	Ткачук В.А., акад.РАН
Иванов В.Т., акад. РАН	Туманян В.Г., проф., д.ф.-м.н.
Карнаухов В.Н., к.б.н.	Чизмаджев Ю.А., чл.-корр. РАН
Кирпичников М.П., акад. РАН	Шувалов В.А., акад. РАН

ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ:

Рубин А.Б., член-корр. РАН – председатель
 Есипова Н.Г., канд. физ.-мат. наук – зам. председателя

Антонов В.Ф., проф., д.б.н.	Подлубная З.А., проф., д.б.н.
Атауллаханов Ф.И., проф., д.б.н.	Ризниченко Г.Ю., проф., д.ф.-м.н.
Бурлакова Е.Б., проф., д.б.н.	Романовский Ю.М., проф., д.ф.-м.н.
Ванин А.Ф., проф., д.ф.-м.н.	Рощупкин Д.И., чл.-корр. РАМН
Вашанов Г.А., проф., д.б.н.	Семьянов А.В., проф., д.б.н.
Владимиров Ю.А., акад. РАМН	Сергеев А.М., чл.-корр. РАН
Воденеев В.А., д.б.н.	Слобожанина Е.И., чл.-корр. НАН Белоруссии
Гельфанд М.С., проф. д.б.н.	Соболев А.С., проф., д.б.н.
Загайнова Е.В., д.м.н.	Твердислов В.А., проф., д.ф.-м.н.
Зинченко В.П., д.ф.-м.н.	Туманян В.Г., проф., д.ф.-м.н.
Иваницкий Г.Р., чл.-корр. РАН	Фесенко Е.Е., чл.-корр. РАН
Казанцев В.Б., д.ф.-м.н.	Финкельштейн А.В., проф., д.ф.-м.н.
Карнаухов В.Н., к.б.н.	Цатурян А.К., проф., д.ф.-м.н.
Колесников С.С., проф., д.б.н.	Черенкевич С.Н., акад. НАН Белоруссии
Комарова Л.Ф.	Чернавский Д.С., проф. д.ф.-м.н.
Красавин Е.А., проф., д.б.н.	Шайтан К.В., проф., д.ф.-м.н.
Крицкий М.С., проф., д.б.н.	Штранкфельд И.Г., к.б.н.
Максимов Г.В., проф., д.б.н.	Ягужинский Л.С., проф., д.б.н.
Мухина И.В., проф., д.б.н.	Яминский И.В., проф., д.ф.-м.н.
Намиот В.А., проф., д.ф.-м.н.	Яхно В.Г., проф., д.ф.-м.н.

ЛОКАЛЬНЫЙ ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ:

Воденеев В.А., д.б.н. – председатель, зав. каф. биофизики

Веселов А.П., проф., д.б.н. – декан биологического ф-та

Загайнова Е.В., д.м.н. – зав. каф. биомедицины

Казанцев В.Б., д.ф.-м.н. – зав. каф. нейродинамики и нейробиологии

Абрамова Н.Н.

Акинчиц Е.К.

Балалаева И.В., к.б.н.

Глушаева Т.С.

Катичева Л.А.

Лебедева А. В.

Леканова Н.Ю.

Мысягин С.А., к.б.н.

Орлова А.Г., к.б.н.

Орлова О.В., к.б.н.

Половинкина Е.О., к.б.н.

Синицына Ю.В., к.б.н.

Сухов В.С., к.б.н.

Черкасова Е.И., к.б.н.

МАТЕРИАЛЫ ДОКЛАДОВ

ФУНДАМЕНТАЛЬНОЕ БИОЛОГИЧЕСКОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ: ОЦЕНКА ИНТЕНСИВНОСТИ

Fundamental biological interactions: evaluation of intensity

Астафуров В.И.

ФГУП Научно-технический центр радиационно-химической безопасности и гигиены ФМБА России, 123182, Москва, Щукинская ул., 40.

Тел.: +7(499)190-51-31; факс: +7(499)193-80-60; e-mail: vastafurov@mail.ru

С точки зрения теоретической физики биологические процессы не имеют принципиальной специфики и могут быть описаны и смоделированы на основе известных законов физики и химии. Однако существующие физические представления не позволяют объяснить происхождение и качественную специфику живых структур, некоторые особенности их функционирования, закономерности биоинформационных процессов. В частности, не поддаются научному объяснению многие биоинформационные эффекты, например, эффекты дистанционного воздействия человека-оператора на функциональное состояние других людей, животных и растений, а также факты дистанционного восприятия событий или предвидения будущих событий, трактуемые в настоящее время с телеологических религиозных позиций.

В настоящей работе представлена теоретическая концепция, согласно которой в Природе существует фундаментальное биологическое взаимодействие, определяющее иерархическое построение живых структур. В основу концепции положены: накопленный массив экспериментальных данных, полученных при исследовании гомеостаза живых структур; анализ свойств «реликтового» радиоизлучения; анализ математической зависимости, связывающей пространственные параметры иерархических структур.

Согласно предложенной концепции, в Природе существуют следующие фундаментальные взаимодействия: а) субнуклонное, б) ядерное, в) электромагнитное, г) биологическое, д) гравитационное. Этим взаимодействиям соответствуют иерархические системы: а) элементы структуры нуклона; б) нуклон, ядра атомов; в) атомы, молекулы и их ассоциации; г) живые организмы, ноосфера; д) звездные системы, Метагалактика.

Численное значение безразмерной константы, характеризующей интенсивность биологического взаимодействия, равно $2,26 \cdot 10^{-12}$. Биологическое взаимодействие слабее электромагнитного взаимодействия в $3 \cdot 10^9$ раз.

Параметры биологического взаимодействия позволяют сделать вывод о его идентичности с фундаментальным слабым взаимодействием. Таким образом, слабое взаимодействие, которое в настоящее время считается ответственным за процесс бета-распада и некоторые другие процессы микромира, следует рассматривать как силовое взаимодействие, определяющее функционирование живых структур [1].

1. Astafurov V.I. The fundamental interaction, determining biological structures functioning // Математическая биология и биоинформатика: Тр. междунар. науч. конф. / Под ред. проф. В.Д. Лахно. – М.: МАКС Пресс, 2008. С. 80-81.

О ВЛИЯНИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ В ОБЛАСТИ МИЛЛИМЕТРОВЫХ ДЛИН ВОЛН НА ЖИВЫЕ СИСТЕМЫ

About of effect of electromagnetic millimeter waves on living systems

Астафуров В.И., Маренный А.М., Семёнов С.Ю.

ФГУП Научно-технический центр радиационно-химической безопасности и гигиены ФМБА России, 123182, Москва, Щукинская ул., 40;
Тел.: +7(499)190-51-31; факс: +7(499)193-80-60; e-mail: vastafurov@mail.ru

Электромагнитное излучение миллиметрового диапазона обладает ярко выраженным биологическим действием. В проведённых экспериментах наблюдается частотно-зависимый отклик живых систем на воздействие миллиметровых волн. Резонансная зависимость выявленных эффектов свидетельствует о том, что механизм воздействия миллиметровых волн затрагивает фундаментальные аспекты гомеостаза живых систем.

Можно предположить, что специфика взаимодействия живых структур с электромагнитным излучением миллиметрового диапазона обусловлена существованием природного генератора данного вида излучения, определяющего функционирование живых структур и управляющего их гомеостазом.

Экспериментальные основания гипотезы. В 1965 году было обнаружено космическое радиоизлучение, получившее название реликтового микроволнового излучения (РМИ). Это излучение является изотропным, характеризуется высокой плотностью энергии, максимум в спектре РМИ приходится на частоту ~160 ГГц (длина волны ~2 мм). Параметры РМИ свидетельствуют в пользу того, что это излучение является собственным, непрерывно генерируемым, излучением материального континуума.

Теоретические основания гипотезы. Автором работы [1] выведено уравнение, связывающее пространственные параметры фундаментальных иерархических структур:

$$\log R_i = \log R_{abc} + f^i \log K_0,$$

где R_i – радиус i -го фундаментального осциллятора; R_{abc} – радиус наименьшего природного осциллятора; f – мерность пространства; K_0 – безразмерный коэффициент; i – номер фундаментального осциллятора ($i = 0, 1, \dots, 5$).

Значению $i = 4$ соответствует осциллятор радиусом ~3,9 мм. Согласно расчётным данным, этот осциллятор должен генерировать электромагнитное излучение с длиной волны ~2,2 мм, что согласуется с данными, полученными при измерении спектра РМИ. Таким образом, из теоретической модели следует, что в Природе существует непрерывный источник миллиметровых волн.

К настоящему времени накоплен обширный клинический и экспериментальный материал, свидетельствующий об изменениях иммунного статуса человека и животных после воздействия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона. В этой связи необходимо отметить, что неконтролируемое расширение диапазона используемых радиочастот в сторону миллиметровых и субмиллиметровых волн может привести к непредсказуемым последствиям для высших форм жизни на Земле.

1. Астафуров В.И. / Математическое моделирование и краевые задачи: Тр. VI Всерос. науч. конф. – Ч. 2. – Самара: СамГТУ, 2009. С. 9-12.

ПРОСТРАНСТВЕННЫЕ ВОЛНЫ: ГИПОТЕЗА О СУЩЕСТВОВАНИИ И ПРЕДПОЛАГАЕМЫЕ СВОЙСТВА

Spatial waves: hypothesis of the existence and the expected properties

Астафурова М.В.¹, Добрецов С.Л.², Астафуров В.И.³

¹ – ГОУ Гимназия 1542, 119620, Москва, ул. Авиаторов, 8, корп. 2;

² – НПО «Тайфун», Институт проблем мониторинга; 249038, Обнинск, ул. Победы, 4;

³ – ФГУП Научно-технический центр радиационно-химической безопасности и гигиены ФМБА России, 123182, Москва, Щукинская ул., 40.

Тел.: +7(499)190-51-31; факс: +7(499)193-80-60; e-mail: vastafurov@mail.ru

При исследовании корреляции биоэлектрических процессов в точках акупунктуры с изменением геомагнитного поля было обнаружено, что изменения электропроводности в точках акупунктуры опережают изменения магнитного поля Земли [1]. За несколько суток до повышения солнечной активности в атмосфере Солнца наблюдаются определённые изменения. На Земле синхронно происходят изменения биоэлектрической активности точек акупунктуры. Важно отметить, что в период регистрации этих изменений геомагнитное поле остаётся спокойным. Таким образом, существует некий информационный сигнал, отличный от электромагнитного сигнала, воспринимаемый биосферой Земли. Запуск механизма, вызывающего повышение солнечной активности, и информация об этом, улавливаемая живыми организмами, происходят практически одновременно.

Гипотеза о существовании пространственных волн. Обнаруженный эффект находит объяснение в рамках пространственно-электромагнитной модели физического вакуума [2]. Колебания электромагнитной компоненты структуры вакуума приводят к образованию электромагнитных волн, а колебания пространственной компоненты – к образованию пространственных волн. Таким образом, в Природе существуют два информационных канала связи материальных объектов: электромагнитные волны и пространственные волны. Можно предположить, что именно пространственный канал связи обеспечивает живые организмы опережающей информацией о процессах, происходящих в Солнечной системе.

Ожидаемые свойства пространственных волн.

В отсутствие экспериментальных данных скорость распространения пространственных волн может быть условно принята равной скорости света.

Пространственное излучение, по нашему мнению, следует считать обладающим двойственной, корпускулярно-волновой, природой.

Для регистрации пространственных волн необходима специальная аппаратура. Существующие приборы ориентированы на измерение массы, электрического заряда, электрического и магнитного полей и не могут быть непосредственно использованы для измерения пространственных волн, являющихся иным видом материального излучения.

1. Гомеостатика живых, технических, социальных и экологических систем. – Новосибирск: «Наука», Сибирское отд-е, 1990. С. 142-162.

2. Современная математика и математическое образование, проблемы истории и философии математики: Тр. междунар. науч. конф. – Тамбов: Изд-во Першина Р.В., 2008. С. 178-181.

СВЕТСОБИРАЮЩИЕ КОМПЛЕКСЫ LH2 С РАЗНЫМ КАРОТИНОИДНЫМ СОСТАВОМ У ПУРПУРНЫХ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

The light-harvesting LH2 complexes with different carotenoid composition of purple photosynthetic bacteria

Ашихмин А.А., Махнева З.К., Москаленко А.А., Ерохин Ю.Е.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская 2
Тел.: +7 (4967) 73-18-49, факс: +7 (4967) 33-05-32, e-mail: alex-asch@rambler.ru

Первичные (физические) процессы протекают в двух основных структурных компонентах фотосинтетического аппарата пурпурных бактерий – в фотохимически активном реакционном центре и светособирающей антенне. Структурной основой антенны являются сложные пигмент-белковые комплексы (ПБК): LH2 и LH1. Пигментная составляющая бактериальных ПБК представлена бактериохлорофиллом и каротиноидами. В настоящее время получить бескаротиноидные клетки, в которых сохраняется полный набор ПБК в нативном состоянии, можно только с использованием ингибитора, так как у бескаротиноидных мутантов комплекс LH2 не собирается.

Ранее с использованием дифениламина (ДФА) мы получили бескаротиноидные клетки у *Allochrochromatium (Alc.) minutissimum* и выделили комплекс LH2, содержащий <1-3% каротиноидов по сравнению с диким типом (основной каротиноид – родопин). Нами найдена еще одна пурпурная серная бактерия – *Ectothiorodospira (Ect.) haloalkaliphila* (основные каротиноиды – спириллоксантин и ангидрородовибрин), у которой можно ингибировать биосинтез каротиноидов на >97%. Полученные бескаротиноидные клетки были жизнеспособны и во время выращивания с ДФА изменяли свою окраску с пурпурной на сине-зеленую. Впервые выделен комплекс LH2 для *Ect. haloalkaliphila*, не содержащий окрашенных каротиноидов, в котором присутствует менее 3% неокрашенных каротиноидов (фитоин, фитофлуин). Проведено встраивание *in vitro* различных экстрактов каротиноидов (*Alc. minutissimum* и *Ect. haloalkaliphila*) в бескаротиноидные мембраны *Ect. haloalkaliphila*. Эффективность встраивания в комплекс LH2 и ансамбль LH1-RC составила >85%. Изучены спектральные и биохимические характеристики комплексов LH2 со встроенными каротиноидами. Результаты подтверждают корректное встраивание каротиноидов в оба ПБК. Изучен процесс ресинтеза каротиноидов у *Ect. haloalkaliphila*. Образцы отбирали в течение 0–110 часов с момента пересева бескаротиноидных клеток на среду выращивания без добавления ДФА. Методом ВЭЖХ исследован каротиноидный состав мембран и выделенных из них препаративным ПААГЭ комплексов LH2 и ансамблей LH1-RC. Удалось проследить «step by step» промежуточные стадии биосинтеза каротиноидов у *Ect. haloalkaliphila*, взаимосвязь процессов восстановления биосинтеза каротиноидов и роста клеток. Показано, что комплексы LH2 могут собираться как практически без каротиноидов, так и с их разными концентрациями. Изучены свойства полученных комплексов LH2: поглощение, флуоресценция, возбуждение флуоресценции, фотоустойчивость и термостабильность.

ВЛИЯНИЕ НА ПАРАМЕТРЫ ДЫХАНИЯ МИТОХОНДРИЙ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЭНДОТОКСИЧЕСКОМ ШОКЕ

The effects of low level laser radiation on the mitochondrial respiration in experimental shock

Буралев Е.А.¹, Жидкова Т.В.², Владимиров Ю.А.², Осипов А.Н.¹

¹ – Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, 117997, Москва, ул.Островитянова, д.1

² – Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 117192, Москва, Ломоносовский пр., д. 31, корп. 5

Тел: +7(495) 434-11-74; факс: +7(495) 434-11-74; e-mail: rsmu@rsmu.ru

Одним из основных механизмов действия низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) на клетки и ткани является фотолиз нитрозильных комплексов гемовых и негемовых соединений. Воздействие лазерного и светодиодного излучения видимого диапазона приводит к разрушению комплексов и высвобождению оксида азота (NO). Взаимодействие компонентов митохондриальной электрон-транспортной цепи с NO представляют особый интерес с точки зрения возможности образования ими нитрозильных комплексов и регуляции скорости потребления кислорода.

Целью данной работы являлось исследовать влияние эндогенного NO на дыхание митохондрий и изучить влияние лазерного излучения синего (442 нм) и зелёного (532 нм) видимого диапазона низкой интенсивности на дыхание митохондрий при экспериментальном эндотоксическом шоке. В работе использовали модель экспериментального эндотоксического шока, получаемую внутрибрюшинным введением липополисахарида В.

Обнаружено, что НИЛИ оказывают заметное влияние на скорость дыхания митохондрий в состояниях V_3 и V_4 , как в норме, так и при эндотоксическом шоке. При действии синего лазерного излучения (442 нм) происходило увеличение скорости дыхания V_3 митохондрий контрольной группы на 12 % при дозе 6 Дж/см². При увеличении дозы облучения происходило постепенное снижение скорости V_3 . В случае использования зелёного лазера (532 нм) статистически значимых отклонений от контроля в величине скорости V_3 не обнаружено. Наибольшее увеличение скорости дыхания V_3 наблюдалось у животных, которым вводили липополисахарид при облучении синим лазером и составляло около 30% при дозе 6 Дж/см² по сравнению с контрольной группой. Скорость потребления кислорода в состоянии V_4 при облучении в дозе до 10 Дж/см² возрастала для всех источников излучения. При экспериментальном эндотоксическом шоке скорость потребления кислорода митохондриями V_4 увеличивалась на 40% для всех источников облучения, но этот эффект был более выраженным, чем в контрольной группе.

Исследование влияния лазерного излучения на дыхание митохондрий показало, что только в опытах с использованием синего лазера (442 нм) наблюдалось увеличение скорости V_3 и V_4 , которое можно объяснить разрушением нитрозильных комплексов в дыхательной цепи. При экспериментальном эндотоксическом шоке данная тенденция была более выраженной.

СВЯЗЬ МЕЖДУ АРХИТЕКТУРОЙ БЕЛКОВОЙ ГЛОБУЛЫ И РАСПОЛОЖЕНИЕМ КОНФОРМАЦИОННО КОНСЕРВАТИВНЫХ ОЛИГОПЕПТИДОВ В БЕЛКАХ ИЗ ОДНОГО СТРУКТУРНОГО СЕМЕЙСТВА

Interconnection between architecture of protein globule and disposition of conformational conservative oligopeptides in proteins from one and the same protein family

Батяновский А.В.¹, Давидовский А.И.¹, Филатов И.В.³, Намиот В.А.², Есипова Н.Г.³, Волотовский И.Д.¹

1 – Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, 220072, Минск, ул. Академическая, 27;

2 – Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Институт ядерной физики, 119992, Москва, Воробьевы горы, 1;

3 – ФГБУ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32

В работе обсуждается роль конформационно консервативных олигопептидов в формировании различных структурных форм макромолекул глобулярных белков. Конкретная задача состоит в поиске связи между взаимным расположением конформационно- стабильных участков полипептидных цепей в пространстве нативной структуры и типом самой структуры. Использованный подход – анализ белковых структур и сравнение пространственного расположения размеченных фрагментов с предпочтительной конформацией полипептидной цепи в различных семействах белковых структур методами компьютерной графики. Структурные семейства выбирали по классификации SCOP с удалением из состава рассматриваемых семейств близких гомологов по последовательностям аминокислот. В работе представлено исследование семейств α -спиральных белков. Основной результат заключается в том, что для значительной части структурных семейств имеет место заметное сходство картин расположения конформационно-консервативных олигопептидов по пространству белковой глобулы данного типа. Случаи, при которых картины расположения различаются существенно довольно редки. Так, при рассмотрении выборки из 31 белкового семейства с длиной полипептидной цепи, превышающей 150 аминокислот, в девяти случаях проявляется полное сходство картин расположения конформационно-консервативных фрагментов внутри каждого из семейств; в 17 случаях наблюдается хорошо выраженное, хотя и частичное сходство; и только в двух случаях отмечены значительные различия. В некоторых случаях интерпретация полученных данных оказалась осложненной. Например, есть семейства, где выявление характерных картин расположения конформационно-стабильных олигопептидов затруднено из-за слишком большого количества таких фрагментов в полипептидной цепи. В некоторых семействах с большим числом попарно низкогомологичных цепей и компактной глобулой выделяются отдельные области пространственной структуры со специфическим для структурной формы каждой из выделенных областей расположением консервативных элементов. Полученные данные позволяют сделать общий вывод: для представителей заметного числа структурных семейств наблюдается характерное для этого семейства расположение конформационно-консервативных олигопептидов. Важно, что установленное сходство расположения конформационно стабильных сегментов не связано гомологией аминокислотных последовательностей, но отражает особенности нативных 3D-архитектур белковых глобул. Работа поддержана договором № Б12Р -209 и грантом РФФИ № 12-04-90051-Бел_а.

МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ УФ-СВЕТА НА ЛИМФОЦИТЫ

Mode of action of UV-light on lymphocytes

Башарина О.В.¹, Артюхов В.Г.¹, Земченкова О.В.²

1 – Воронежский государственный университет

2 – Воронежская медицинская академия им. Н.Н. Бурденко

Тел.: +7(473)220-89-81; факс: +7(473)220-83-08; e-mail: bov-bio@mail.ru

Исследовано влияние УФ-света (240–390 нм) в дозах 151 и 755 Дж/м² на функциональные свойства ключевых ферментов метаболизма лимфоцитов крови доноров: лактатдегидрогеназы (ЛДГ), цитохром *c* оксидазы (ЦО), сукцинатдегидрогеназы (СДГ), Ca²⁺-АТФазы плазматических мембран. Установлено, что фотоинаktivация ферментов непосредственно после облучения, приводящая к снижению количества АТФ в лимфоцитах, сменяется повышением активности исследуемых ферментов в ходе суточной инкубации клеток. В результате уровень АТФ в фотомодифицированных лимфоцитах не отличается от такового в нативных клетках до инкубации. Это указывает на нормализацию биохимических процессов в лимфоцитах, облученных дозами УФ-света, используемыми при АУФОК-терапии. Выявлено, что повышение активности СДГ, цитохромоксидазы и Ca²⁺-АТФазы в фотомодифицированных лимфоцитах в ходе суточной инкубации обусловлено синтезом данных ферментов *de novo*. Установлено, что повышение СОД-активности лимфоцитов при их УФ-облучении в дозе 151 Дж/м² также обусловлено синтезом фермента клетками *de novo*.

Обнаружено повышение фагоцитарной активности нейтрофилов при их инкубации с фотомодифицированными лимфоцитами. При изучении влияния УФ-света на нейтрофилы крови доноров установлен праймирующий эффект облучения на их функциональную активность. Предполагается, что УФ-свет является индуктором различных биофизических и биохимических процессов, в т.ч. синтеза белков, запускающих прайминг клеток. Установлено, что УФ-облучение лимфоцитов активирует процессы синтеза интерлейкинов 1β и 2. Известно, что активные формы кислорода влияют на синтез цитокинов путем образования транскрипционных факторов в активном состоянии. Наблюдаемое нами увеличение продукции цитокинов, по-видимому, обусловлено накоплением АФК с последующей активацией определенных факторов транскрипции при УФ-облучении лимфоцитов. В облученных лимфоцитах выявлено повышение уровня ПОЛ. Следовательно, при УФ-облучении усиливается образование АФК, и, возможно, именно этот механизм лежит в основе увеличения продукции ИЛ-1β и ИЛ-2. Вероятно, с этим связана высокая степень прайминга нейтрофилов при длительной инкубации с фотомодифицированными клетками. На основании собственных экспериментальных и литературных данных нами предложена схема действия УФ-света на иммуноциты.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФОТОМОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛИМФОЦИТОВ

Structural-functional changes of photo-modified lymphocytes

Артюхов В.Г.¹, Земченкова О.В.², Башарина О.В.¹, Рязанцев С.В.²

1 – Воронежский государственный университет

2 – Воронежская медицинская академия им. Н.Н. Бурденко

Тел.: +7(473)220-89-81; факс: +7(473)220-83-08; e-mail: zov-bio@mail.ru

Важность изучения механизмов трансформации энергии УФ-излучения, поглощенной живыми системами различных уровней организации, обусловлена, в первую очередь, тем, что УФ-свет выступает в качестве тонкого регуляторного агента, обеспечивающего поддержание различных типов гомеостатических процессов организма. Использование УФ-света в медицинской практике (АУФОК-терапия) приводит к улучшению иммунологического статуса организма, что является следствием структурно-функциональных изменений иммунокомпетентных клеток. Причем ключевую роль играют изменения поверхностных структур моноклеаров.

Нами показано, что в фотомодифицированных в дозах 151 и 755 Дж/м² (240-390 нм) лимфоцитах, инкубированных в течение суток, происходит повышение уровня экспрессии CD3 и CD19 маркеров. При этом среди Т-лимфоцитов наблюдается уменьшение количества клеток с CD4 маркером при одновременном повышении уровня CD8⁺-клеток. Имеющиеся в настоящее время данные свидетельствуют о том, что основным медиатором повышения экспрессии молекул клеточной поверхности при действии УФ-света являются активные формы кислорода. Результаты наших исследований указывают на корреляцию процесса уменьшения содержания CD4⁺-клеток с АФК-опосредованным апоптозом. Так, выявлено, что через 1 час после УФ-облучения повышается содержание лимфоцитов, несущих маркер апоптотической предуготовленности – CD95, происходит также повышение экспрессии CD25 маркера (рецептора ИЛ-2, являющегося основным аутокринным фактором Т-лимфоцитов), что, по-видимому, направлено на защиту клеток от развития апоптоза. В условиях УФ-облучения происходит нарушение структурного состояния мембран лимфоцитов (что подтверждается выявленным дозозависимым увеличением уровня пероксидного окисления липидов), следствием чего является экспонирование ранее недоступных маркерных молекул на клеточную поверхность.

В случае инкубации лимфоцитов в присутствии циклогексимида (блокатора белкового синтеза) уровень экспрессии CD95 и CD25 был значительно ниже по сравнению с таковым для облученных образцов, инкубированных без циклогексимида, а экспрессия CD8 маркера статистически значимо не отличалась от таковой у нативных клеток непосредственно после их выделения. Следовательно, увеличение уровня экспрессии указанных маркеров происходит не только вследствие экспонирования на поверхность плазматических мембран ранее недоступных маркеров, но и синтеза новых молекул данных рецепторов.

ФОТОАКТИВИРОВАННЫЙ ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ СИНТЕЗ СЕРОТОНИНА: ЕГО ФОТОЗАЩИТНАЯ И РЕГУЛЯТОРНАЯ ФУНКЦИИ

Photoactivated enzymatic synthesis of serotonin: its photoprotective and regulatory functions

Беленикина Н.С., Страховская М.Г., Фрайкин Г.Я.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Ленинские горы, 1, стр.12

Тел.: +7(495)939-39-68; факс: =7(495)939-11-15; e-mail:nata.belenikina@ya.ru

Исследование процессов фоторегуляции клеточных функций позволяет открывать новые свойства биохимических соединений. В настоящем сообщении анализируются регуляторная и протекторная функции серотонина, выявленные нами при изучении двух обнаруженных у дрожжей фотобиологических эффектов фоторегуляции клеточных делений и фотозащиты клеток от УФ(254 нм) инактивации. Оба эффекта индуцируются монохроматическим светом в диапазоне 310–380 нм со сходным спектром действия, характеризуются наличием темновой стадии и триггируются фотоактивацией фермента декарбоксилазы, участвующего в биосинтезе серотонина. Кофактор декарбоксилазы пиродоксальфосфат (ПФ) в форме аддукта с максимумом поглощения при 330–340 нм рассматривается в качестве кандидата на роль первичного хромофора, а механизм фотомодуляции ферментативной активности связывается с фототрансформацией фермента из неактивной формы в активную (ПФ в виде шифова основания) в результате фотодиссоциации ПФ–аддукта. Экзогенный серотонин обладает фотомиметическим действием, регулируя скорость роста дрожжей и вызывая защиту клеток от УФ инактивации. Кривые зависимости двух эффектов от концентрации серотонина имеют принципиально различный характер и аналогичны кривым зависимостей соответствующих фотобиологических эффектов от дозы освещения. Данные модельных экспериментов, демонстрирующие способность серотонина образовывать интеркалированный комплекс с ДНК и уменьшать выход УФ–индуцированных тиминовых димеров, рассматриваются как подтверждение предполагаемого механизма его протекторного действия при фотозащите клеток от УФ инактивации. Дополнительно при обсуждении вопроса о биологической реализации процесса фотоактивированного синтеза серотонина анализируется роль реакции его ферментативной конверсии в мелатонин. Лимитирующим скорость данной реакции ферментом является *N*-ацетилтрансфераза, активность которой (регулируемая на транскрипционном уровне) ингибируется светом, вследствие чего превращение серотонина в мелатонин интенсифицируется в темноте. Этим может объясняться характерная особенность рассматриваемых фотобиологических эффектов – зависимость их проявления от наличия темновой стадии.

ПОЛУЧЕНИЕ ИСКУССТВЕННОГО ЛИПОФУСЦИНА ИЗ НАРУЖНЫХ СЕГМЕНТОВ ФОТОРЕЦЕПТОРОВ БЫКА

Preparation of model lipofuscin from bovine rod outer segments

Донцов А.Е., Коромылова А.Д., Сакина Н.Л.

Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4;
Тел.: +7(499)939-74-22; факс: +7(499)137-41-01; e-mail: adontsovnick@yahoo.com

В последние годы происходит рост числа заболеваний возрастной макулярной дегенерацией сетчатки среди людей старше 65 лет, приводящей в конечном итоге к потере центрального зрения. Одной из основных причин заболевания является накопление с возрастом в клетках ретинального пигментного эпителия (РПЭ) липофусциновых гранул (ЛГ) [1]. ЛГ содержат сложную смесь хромофоров, из которых в настоящее время идентифицированы бисретиноид А2Е, его изомерная и окисленные формы, а также димеры полностью *транс*-ретинала [2].

Ранее нами было показано [3], что спектрально-люминесцентные характеристики нативных препаратов ЛГ из РПЭ глаза человека в значительной степени определяются присутствием в них бисретиноида А2Е. Более того, спектральные изменения в ЛГ, вызванные облучением гранул видимым светом, в значительной мере также связаны с окислительными реакциями хромофора А2Е [3]. Цель настоящего исследования – получение модельного липофусцина из препарата наружных сегментов фоторецепторов (НСФ) глаза быка и синтетического хромофора А2Е со спектральными характеристиками схожими с таковыми у нативных ЛГ. Для получения синтетического липофусцина были использованы НСФ, выделенные из глаз быка, и А2Е, синтезированный по стандартной методике. НСФ (исходная концентрация 10 мг белка/мл К-фосфатного буфера) подвергали процессу автоокисления при температуре 4⁰ С, в результате которого происходило накопление в них ТБК-активных продуктов до концентрации 12 нмоль/мг белка. Такой препарат, содержащий незначительное количество флуоресцирующих продуктов, был проинкубирован в течение 72 ч при 37⁰ С и постоянном перемешивании, после чего подвергнут диализу против избытка калий-фосфатного буфера. В результате произошло значительное (более чем на порядок) возрастание интенсивности эмиссии образца (при длине волны возбуждения 365 нм) с максимумом в районе 445-448 нм. Это вероятно обусловлено модификацией белков и липидов реактивными карбонилами с образованием Шиффовых оснований. Однако, интенсивность флуоресценции в области, характерной для нативных ЛГ (560-600 нм), была значительно ниже максимума. Затем суспензия была проинкубирована с синтетическим А2Е (соотношение НСФ/А2Е составляло 0,01 мг белка НСФ/нмоль А2Е) в течение одного часа, после чего полученный продукт был осажден центрифугированием. Связывание А2Е приводило почти к 5-ти кратному уменьшению интенсивности флуоресценции при 445 нм и к одновременному увеличению ее интенсивности в области 540-600 нм. Сопоставление абсорбционных и флуоресцентных спектров (при длинах волн возбуждающего света 330, 365 и 430 нм) полученного продукта и нативных ЛГ из РПЭ человека, показало их большое сходство. Облучение этого модельного липофусцина белым светом видимого диапазона, как и облучение в тех же условиях нативных ЛГ, приводило к исчезновению максимума при 560 нм и появлению интенсивного максимума флуоресценции при 445 нм. Полученные результаты свидетельствуют о том, что спектрально-люминесцентные характеристики природных ЛГ из клеток РПЭ определяются в значительной степени присутствием в них, модифицированных карбонилами белков и липидов, а также наличием бисретиноида А2Е и его производных.

1. Holz F.G., Pauleikhoff D. et al./ *Amer.J.Ophthalmol.*, 2004. V.137. P.504-510. 2. Sparrow J.R., Wu Y. et al., / *J. of Lipid Res.*, 2010. V.51. P.247-260. 3. Донцов А.Е., Сакина Н.Л. и др./ Доклады РАН, 2009. Т.425, С.504-510.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЛИЕНОVOГО АНТИБИОТИКА ЛЕВОРИНА А₂, ВВОДИМОГО С ОДНОЙ СТОРОНЫ ЛИПИДНЫХ МЕМБРАН

Physico-chemical properties of levorin A₂ polyene antibiotic at the one side action of lipid membranes

Ибрагимова В.Х.

Бакинский Государственный Университет, факультет почвоведения и экологии, кафедра почвоведения, AZ-1148, Баку, ул. З.Халилова, 23,
Тел. (+99450) 2300369; e-mail: vafahal@rambler.ru

Полиеновые антибиотики (ПА), продуцируемые актиномицетами, составляют большой класс мембраноактивных соединений, биологическое действие которых связано с изменением проницаемости липидных и клеточных мембран для ионов и органических соединений. Ряд представителей этого класса соединений амфотерицин В, нистатин, микогептин и леворин являются эффективными лекарственными препаратами и широко используются в медицинской практике для лечения грибковых инфекций. Однако молекулярный механизм действия полиенов остается до сих пор не раскрытым. Общим в химической структуре ПА является наличие лактонного кольца, содержащего гидрофобную цепочку с определенным числом двойных связей и гидрофильную цепь, в состав которой входят несколько гидроксильных и карбонильных групп. В структуре молекулы леворина А₂ содержится дополнительная ароматическая группировка. В основе механизма действия ПА лежит формирование ими в липидных мембранах в комплексе со стеринами ионных каналов с определенной проводимостью [1]. Исследования на бислойных липидных мембранах (БЛМ) в присутствии ПА дают значительно большую информацию о физико-химических свойствах и о молекулярных процессах работы одиночных ионных каналов, в зависимости от структуры молекул, формирующих канал и от условий внешней среды. Показано, что параметры одиночных ионных каналов – селективность, проводимость, времена жизни каналов в открытом и закрытом состояниях регулируются посредством структурных модификаций в полиеновой молекуле.

Установлено, что при односторонней модификации липидных мембран леворином А₂ наблюдается увеличение проводимости мембран для одновалентных катионов, а также для моносахаров и других нейтральных молекул в следующем ряду проницаемости: Н₂О > мочевины > ацетамид > глицерин > рибоза > арабиноза > глюкоза > сахароза. Механизм действия леворина А₂ основан на формировании с одной стороны мембраны полупор-каналов, индуцирующих проницаемость мембран для ионов и неэлектролитов. Алкильная модификация полярных групп в молекулах леворина не влияет на проводимость левориновых каналов и избирательную проницаемость мембран. При этом проводимость левориновых каналов составляет 0,3-0,5 пС, сравнимую с величиной проводимости каналов, образованных при симметричном введении леворина А₂. Предполагается, что избирательная проницаемость левориновых полупор определяется молекулярной структурой гидрофильной цепи, выстилающей внутреннюю полость канала. Предложена гипотетическая молекулярная модель формирования левориновых полупор при односторонней модификации липидных мембран леворином А₂.

1. Ibragimova V.Kh., Alieva I.N., Kasumov Kh.V., Khutorsky V. Transient permeability induced by alkyl derivatives of amphotericin B in lipid membranes / Biochim. et Biophys. Acta, 2006, v. 1758, p. 29-37.

ВЛИЯНИЕ УФ-ОБЛУЧЕНИЯ И ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ДОРА-МЕЛАНИНА

The action of UV-irradiation and oxidative stress on DOPA-melanin antioxidative activity

Коромыслова А.Д., Сакина Н.Л., Донцов А.Е.

Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4;

Тел.: +7(499)939-74-22; факс: +7(499)137-41-01; e-mail: *adontsovnick@yahoo.com*

Хорошо известна защитная роль меланиновых пигментов от повреждающего действия света и окислительных свободно радикальных процессов в клетках глаза [1]. Однако с возрастом происходит значительное уменьшение концентрации меланина в клетках ретинального пигментного эпителия (РПЭ). Это вероятно связано с процессами биодegradации меланосом [2] в результате длительного воздействия светового облучения в аэробных условиях [3]. Показано, например, что продолжительное облучение меланосом в УФ-видимом диапазоне в аэробных условиях приводит к деградации структуры полимера, сопровождающейся потерей способности меланосом ингибировать железо-индуцированную пероксидацию полиненасыщенных жирных кислот [4]. Цель работы – сравнительное исследование антиоксидантной активности (АОА) ДОРА-меланина, аналога природных эумеланинов, подвергнутого длительному воздействию УФ-видимого света или действию сильных окислителей. В качестве источника УФ-видимого света использовали ртутную лампу ДРК-120, мощностью 120 Вт, световым потоком 3900 Лм и основной полосой испускания, приходящейся на область 270-320 нм. В качестве окислителя использовали 20% раствор пероксида водорода. АОА определяли по величине латентного периода тушения хемилюминесценции люминола, а скорость УФ-индуцированной пероксидации наружных сегментов фоторецепторных клеток (НСФ), по накоплению ТБК-активных продуктов в среде инкубации. Результаты показали, что облучение раствора ДОРА-меланина в концентрации 1,0 мг/мл (объем 6 мл, постоянное перемешивание) в течение 52 часов, приводило к, примерно, 5-кратному уменьшению константы тушения хемилюминесценции по сравнению с необлученным препаратом. В то же время 52-х часовое облучение приводило всего лишь к 1,5-кратному уменьшению ингибирующей способности ДОРА-меланина в отношении УФ-индуцированной пероксидации НСФ. При этом длительное облучение в столь жестких условиях приводило только к незначительному изменению оптической плотности ДОРА-меланина, примерно 2-кратному уменьшению концентрации парамагнитных центров и к незначительному возрастанию концентрации флуоресцирующих продуктов деградации полимера. Окислительная деградация ДОРА-меланина концентрированным раствором пероксида водорода была значительно эффективнее УФ облучения. Уже 4-6-часовая инкубация полимера с пероксидом водорода приводила к практически полному обесцвечиванию раствора, более чем 10-кратному увеличению концентрации флуоресцирующих продуктов и к полной потере АОА и способности ингибировать процессы пероксидации НСФ. Предполагается, что биодegradация меланина в большей степени происходит в результате окислительной деструкции/фотодеструкции полимера, чем в результате длительного воздействия только УФ-видимого облучения.

1. Донцов А.Е., Островский М.А./ В кн. «Химическая и биологическая кинетика. Новые горизонты», 2005. Т.2. С.155-174.
2. Borovansky J., Elleder M./ *Pigment Cell Res.*, 2003. V.16. P.280-286.
3. Meredith P., Sarna T./ *Pigment Cell Res.*, 2006. V.19. P.572-594.
4. Zadlo A., Rozanowska H.B./ *Pigment Cell Res.*, 2006. V.20. P.52-60.

ФОТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СПЕКТРОВ ПОГЛОЩЕНИЯ КИСЛОРОДА, РАСТВОРЕННОГО В СПИРТОВЫХ И ВОДНЫХ СРЕДАХ В ЕСТЕСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Красновский А.А.^{1,2}, Козлов А.С.¹

1 - Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, 119071 Москва, Ленинский пр-т, 33;

2 – Биологический факультет Московского Государственного университета им. М.В. Ломоносова, 119499, Воробьевы горы

Тел. +7(495)954-1472; факс +7(495)954-2732; e-mail: phoal@mail.ru

Молекулярный кислород, как известно, сочетает исключительно высокую биохимическую активность, что делает его ключевым участником биоэнергетических процессов и окислительного стресса, со свойствами слабого хромофора, обладающего характерным спектром поглощения и собственной люминесценцией. Поэтому анализ фотофизических параметров свойств кислорода является важной фундаментальной задачей биофизики и биохимии. В частности, известно, что в естественных условиях полосы поглощения, соответствующие триплет-синглетным переходам в кислородных молекулах, настолько слабы, что их невозможно измерить прямыми спектрофотометрическими методами. Поэтому информацию об этих абсорбционных переходах до недавнего времени получали только из люминесцентных измерений в естественных условиях или из абсорбционного анализа при очень высоком давлении (более 100 атм), когда молекулы кислорода полностью димеризованы. В течение последних нескольких лет нашей лабораторией в содружестве с ФиРАН был разработан фотохимический метод измерения абсорбционных свойств кислорода, основанный на прямом возбуждении его молекул ИК лазерным излучением. Показано, что облучение аэробных растворов ИК излучением в области 1273 и 765 нм приводит к окислению химических ловушек синглетного кислорода - тетрацена, 1,3-дифенилизобензофурана или мочевиной кислоты. В настоящей работе представлены последние результаты изучения этого эффекта в спиртовых и гетерогенных водно-детергентных системах. Наилучшие результаты получены путем сравнительного анализа скоростей фотоокисления ловушек при фотосенсибилизированном порфирином и прямом возбуждении кислорода. Экспериментальные данные позволили измерить константы скорости реакции ловушек с синглетным кислородом а также оценить оптическую плотность и молярный коэффициент поглощения (ϵ) кислородных молекул, соответствующие полосам при 1273 и 765 нм. Из значений ϵ рассчитаны поперечное сечение поглощения и константы скорости радиационной дезактивации молекул кислорода, соответствующие этим полосам. Получено, что радиационные константы удовлетворительно соответствуют измеренным по фосфоресценции кислорода, причем фотохимический метод дает уникальную возможность исследовать радиационные свойства электронного перехода, соответствующего полосе 765 нм, в любых средах, включая спирты и воду, в которых время жизни этого состояния кислорода составляет доли пикосекунды и поэтому фосфоресцентные измерения невозможны. Обсуждается значение полученных данных для фотобиологии и фотомедицины.

1. A.A. Krasnovsky, A.S. Kozlov, Ya.V. Roumbal. Photochemical investigation of the IR absorption bands of molecular oxygen in organic and aqueous environment. Photochemical and Photobiological Sciences, 11, 988-997, 2012.

САМООРГАНИЗАЦИЯ МЕТИЛРЕЗОРЦИНА В ВОДНОМ РАСТВОРЕ И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА КАТАЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ И АДсорбЦИОННОЕ ПОВЕДЕНИЕ ЛИЗОЦИМА

Self-Assembly of Methylresorcinol in Aqueous Solution and its Effect on Catalytic Activity and Adsorption Behavior of Lysozyme

Мартиросова Е.И., Плащина И.Г.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, ул. Косыгина, 4

Тел. +7 (495) 939 74 02, e-mail: mart@sky.chph.ras.ru

В результате ранее проведенных исследований было показано влияние алкилоксибензолов (АОБ) – химических аналогов микробных ауторегуляторных факторов на активность, стабильность и субстратную специфичность ряда гидролаз, в том числе лизоцима. Наибольший эффект в отношении этих свойств наблюдался в случае метилрезорцина (МР). Показано, что в концентрациях 10^{-7} – 10^{-3} М МР вызывал повышение активности лизоцима в отношении специфического субстрата - бактериальных клеток *Micrococcus luteus* (до 120%), и неспецифических гетерогенных субстратов - дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* (до 400%) и коллоидного хитина (до 470%). В наших последних исследованиях была продемонстрирована способность МР стимулировать каталитическую активность лизоцима (до 200%) и в отношении гомогенного субстрата – хитозана, а также расширять область рН, в которой активность фермента сохраняется и даже превосходит максимальное значение, соответствующее оптимальному рН в контроле.

С целью установления природы наблюдаемых эффектов выполнено систематическое исследование влияния концентрации МР на термодинамические параметры взаимодействия с лизоцимом методом микрокалориметрии смешения. Установлено, что взаимодействие имеет экзотермический характер. Определены стандартные термодинамические функции связывания ($\Delta H_b^0 = -9,6$ кДж/моль; $\Delta S_b^0 = -3,8$ Дж/моль К; $\Delta G_b^0 = -8,5$ кДж/моль). Тем же методом, на основании изменения знака энтальпии смешения МР с растворителем с отрицательного на положительный при достижении концентрации МР 16,6 мМ, в сочетании с методом динамического светорассеяния, зафиксировавшего появление в растворе при той же концентрации МР частиц с гидродинамическим диаметром 220 нм, обнаружена способность МР к самоорганизации в растворе. С помощью метода динамической капельной тензиометрии и дилатометрии установлено, что МР обладает поверхностной активностью, сравнимой по величине с таковой у традиционных ПАВ, а также – к формированию устойчивых адсорбционных слоев на границе воздух/вода. Адсорбционное поведение МР и его влияние на данное свойство лизоцима и характеристики его адсорбционных слоев коррелирует с условиями самоорганизации МР. Так в области молекулярно-дисперсного состояния МР способен значительно повышать упругость адсорбционных слоев лизоцима, в то время как при более высоких концентрациях этот эффект отсутствует.

Сопоставляя данные по влиянию концентрации МР на ферментативную активность с результатами исследований по самоорганизации МР, можно предположить, что последняя служит стерическим препятствием для проникновения МР в активный центр лизоцима, вследствие чего дальнейшее увеличение концентрации лиганда в системе перестает влиять на активность фермента.

НАНОБИОГИБРИДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК ДЛЯ ИНДИКАЦИИ, ВИЗУАЛИЗАЦИИ И СЕНСИНГА

Nanobiohybrid materials on the base of quantum dots for indication, imaging and sensing

Олейников В.А.^{1,2}, Генералова А.Н.¹, Мочалов К.Е.^{1,2}, Артемьев М.В.^{2,4}, Сизова С.В.^{1,2}, Суханова А.В.^{2,3}, Набиев И.Р.^{2,3}

1 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва 117997, ул. Миклухо-Маклая 16/10;

2 – Лаборатория нанобиоинженерии, НИЯУ МИФИ, Москва 115409, Каширское ш., 31;

3 – Европейская технологическая платформа «Полупроводниковые нанокристаллы», Институт молекулярной медицины, Тринити колледж, Дублин, Ирландия;

4 – Институт физико-химических проблем, Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Тел. и факс: +7(495)3305974; e-mail: voleinik@mail.ru

Использование уникальных свойств полупроводниковых флуоресцентных нанокристаллов (квантовых точек) позволяет реализовать новые подходы к созданию новых нанобиогибридных материалов, использование которых открывает возможности в создании систем индикации, визуализации и различного рода сенсорных устройств, позволяющих измерять параметры среды в микро- и нано-объемах.

К настоящему времени, нами разработаны и синтезируются три типа нанобиогибридных конъюгатов.

(1) Единичные нанокристаллы (квантовые точки) с присоединенными к ним распознающими молекулами, в качестве которых использованы полноразмерные антитела, их фрагменты или миниантитела.

(2) Полимерные микрочастицы, содержащие один или несколько нанокристаллов. Заключение нанокристаллов в полимерную матрицу позволяет более надежно изолировать нанокристаллы от окружающей среды и применять более простые способы присоединения распознающих молекул к поверхности микрочастиц.

(3) Полимерные микрочастицы, спектрально кодированные флуоресцентными нанокристаллами, являющиеся основой создания «жидких биочипов» для мультиплексной детекции биологических объектов (например маркеров заболеваний в медицинской диагностике) или в качестве основы формирования сенсорных элементов для измерения параметров среды в объемах микро- или нанометрового диапазона.

Использование микрочастиц функционализированных так называемыми «умными» полимерами, обратимо реагирующими на небольшие изменения параметров окружающей среды, привлекает все большее внимание. Использование в таких системах полупроводниковых нанокристаллов позволяет создавать микро- и наносенсоры на измерение этих параметров в уникально малых объемах. В настоящей работе мы представляем новый класс сенсоров, представляющих собой композитные микрочастицы из сополимера акролеин-стирол, покрытых слоем чувствительного полимера с включенными в него нанокристаллами. Использование поливинил капролактама позволило создать термочувствительные сенсоры, позволяющие оценивать температуру в локальных объемах среды (порядка 10^{-18} л) в диапазоне температур, характерных для физиологических объектов. Многослойные системы на основе полиэлектролитов с дополнительным белковым слоем (например, БСА), позволили нам сформировать сенсоры на pH и ионы меди.

Одной из проблем использования полупроводниковых нанокристаллов в качестве нанозондов для индикации и визуализации является проблема сохранения функциональной активности антител после присоединения их в наночастицам. В настоящей работе описаны два подхода к решению этой проблемы, основанные на ориентированном присоединении фрагментов полноразмерных антител или ориентированном присоединении к поверхности наночастиц фрагментов однодоменных миниантител, производимых в организме верблюдовых. В обоих случаях показана почти 100-процентная активность антиген-распознающих сайтов антител и повышение эффективности селективного связывания нанобиогибридных нанозондов со своими мишенями более чем на порядок.

ГЕМОЛИЗ ЭРИТРОЦИТОВ, ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРОВАННЫЙ АМИДНЫМИ ПРОИЗВОДНЫМИ ХЛОРИНА Е6: РОЛЬ СВЯЗЫВАНИЯ

Erythrocyte photohemolysis sensitized by amide derivatives of chlorin e6: the impact of binding

Омарова Е.О.¹, Котова Е.А.¹, Зайцев А.В.², Ольшевская В.А.², Калинин В.Н.², Мойсенович М.М.³, Штиль А.А.⁴, Агапов И.И.³, Антоненко Ю.Н.¹

1 – НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского, МГУ имени М.В.Ломоносова;

2 – Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова, РАН;

3 – биологический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова;

4 – Российский онкологический научный центр им. М.М. Блохина

119991 Москва Ленинские горы д.1 стр.40;

Факс: (7-495) 939 31 81, elenaomarova@mail.ru

Проведено сравнительное исследование фотосенсибилизированного амидными производными хлорина е6 гемоллиза эритроцитов человека, моделирующего способность фотосенсибилизаторов вызывать разрушение клеточной мембраны. Освещение суспензии эритроцитов в присутствии производных хлорина е6, BS23 (13(1)-N-(2-(О-(Клозо-монокарбадодекаборан-1-ил)-метил)аминоэтил)-амид-15(2),17(3)-диметиловый эфир хлорина е6) и BS26 (13(1)-N-(2-аминоэтил-амид-15(2),17(3)-диметиловый эфир хлорина е6)) в концентрации 2 нМ вызывало изменение светорассеяния образца с полувременем порядка 600-700 сек, свидетельствующее о гемоллизе эритроцитов, тогда как освещение в присутствии 2 нМ хлорина е6 не приводило к гемоллизу. В этом случае для достижения сопоставимого фотогемолитического действия необходимо было увеличить концентрацию фотосенсибилизатора до 80 нМ. Концентрационные зависимости полувремени фотосенсибилизированного гемоллиза, практически совпадающие для амидных производных хлорина е6 (BS23 и BS26), были приблизительно на два порядка сдвинуты в сторону больших концентраций в случае хлорина е6. Таким образом, как BS23, так и BS26 оказались гораздо более эффективными фотосенсибилизаторами, чем хлорин е6, для гемоллиза эритроцитов.

Согласно результатам нашей предыдущей работы (Moisenovich et al., PLoS ONE, 2010, Vol. 5, No. 9, e12717), BS23 и BS26 обладают гораздо большей фотосенсибилизирующей активностью в пермеабиллизации липосом из ненасыщенных липидов, чем хлорин е6, что по-видимому, также обусловлено повышенным сродством этих производных хлорина е6 к липидным мембранам по сравнению с самим хлорином. В подтверждение этого в настоящей работе получены данные о значительной разнице в увеличении поляризации флуоресценции при связывании BS23 и хлорина е6 с липосомами из яичного фосфатидилхолина, а также в величине наблюдаемого при связывании с мембранами батохромного сдвига максимума флуоресценции BS23, BS26 и хлорина е6.

Значительная разница в связывании BS23 и хлорина е6 была также получена на эритроцитах методом флуоресцентной корреляционной спектроскопии и при прямом измерении связывания по флуоресценции супернатанта после центрифугирования эритроцитов, инкубированных с фотосенсибилизаторами. Таким образом, полученные нами данные по высокой фотогемолитической активности борированного хлорина е6 коррелируют с повышенным сродством этого соединения к клеточным и искусственным липидным мембранам.

ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГЕНОМНОЙ ДНК И ИХ РОЛЬ В РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ ПРОКАРИОТИЧЕСКИХ ГЕНОМОВ. ФЕНОТИП ДНК

Electrostatic properties of genome DNA and their role in the transcription regulation in prokaryotic genomes. DNA phenotype

Осипов А.А., Крутинин Г.Г., Крутинина Е.А., Камзолова С.Г.

Институт биофизики клетки РАН, 142290, Пущино, ул.Институтская, 4

Тел.: +7(926)137-63-33; e-mail: aosupov@gmail.com

ДНК - сильно заряженная молекула, и электростатика должна играть важную роль в ее взаимодействии с белками, в частности, регулируемыми транскрипцию. Однако отсутствие метода, позволяющего рассчитать профиль электростатического потенциала (ЭП) протяженных участков ДНК, тормозило исследование этой проблемы. В нашей лаборатории был разработан такой метод и построена DEPPDB - база данных электростатических и других физических свойств всех полных секвенированных

Отрицательный ЭП имеет неоднородное распределение вдоль молекулы ДНК и прямо, но не однозначно, зависит от ее GC состава. Важно конкретное расположение нуклеотидов и окружающие последовательности. Измеренная в прямом эксперименте частота связывания молекулы РНК-полимеразы вдоль генома прямо коррелирует с рассчитанным значением ЭП.

Области регуляции транскрипции имеют выраженные особенности ЭП. Сайты связывания транскрипционных факторов различных белковых семейств в разных таксонах расположены в областях повышенного ЭП и сами имеют высокое его значение. Промоторы в среднем имеют повышенное значение величины и неоднородности профиля ЭП. Точки старта транскрипции прокариотических геномов характеризуются протяженной (сотни п.о.) зоной повышенного ЭП и серией неоднородностей непосредственно вокруг ТСТ. Это связано с посадкой белков и формированием других физических свойств, необходимых для работы машины транскрипции. Конкретные детали этой архитектуры схожи у близких таксонов. Многочисленные данные свидетельствуют о том, что третий промоторный детерминант, так называемый *ur*-элемент, имеет электростатическую природу.

При изучении влияния электростатики на работу генома следует учитывать закономерности формирования других физических свойств ДНК, в частности - изгибности, термостабильности, суперскрученности. Имеются данные о взаимодействии этих свойств и электростатики как при их формировании, так и при регуляции работы генома.

Полученные данные позволяют сделать вывод о важности и универсальности роли электростатики в регуляции транскрипции прокариотических геномов. Предлагаемый механизм влияет на вероятность связывания и точность позиционирования участвующих в регуляции транскрипции белков. Универсальный характер регуляторного воздействия электростатики позволяет предположить его важность для процесса горизонтального переноса генов и эволюции систем регуляции транскрипции и внести вклад в понимание проблемы повышенного содержания АТ в регуляторных областях генома.

Особенности формирования физических свойств на основе нуклеотидной последовательности позволяют по-новому взглянуть на фундаментальные проблемы второго правила Чаргаффа, избыточности генетического кода и нейтральности синонимических замен и обосновать фундаментальное положение о фенотипе ДНК.

ВЕКТОРНЫЕ РЕАКЦИИ ПЕРЕНОСА ЗАРЯДА НА ДОНОРНОЙ СТОРОНЕ ИНТАКТНОГО И ФОТОАКТИВИРОВАННОГО ЛИШЕННОГО МАРГАНЦЕВОГО КЛАСТЕРА ЯДЕРНЫХ КОМПЛЕКСОВ ФОТОСИСТЕМЫ 2

Vectorial charge transfer reactions on the donor side of intact and manganese depleted photoactivated Photosystem 2 core complexes

Петрова И.О., Курашов В.Н., Семенов А.Ю., Мамедов М.Д.

НИИ физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского, Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва 119234, Ленинские горы, д.1, стр.40
Тел. :+7 (495) 939-31-; факс: +7 (495) 939-31-81, e-mail: mamedov@genebee.msu.ru

Пигмент-белковый комплекс фотосистемы 2 (ФС 2), локализованный в тилакоидных мембранах высших растений, водорослей и цианобактерий, является основным источником кислорода в атмосфере Земли. Индуцированное светом функционирование ФС 2 непосредственно связано с переносом электронов и протонов через мембрану, что приводит к образованию разности электрических потенциалов ($\Delta\Psi$) [1].

Ранее нами с помощью прямого электрометрического метода на протеолипосомах, содержащих интактные ядерные комплексы ФС 2, были изучены и охарактеризованы электрогенные реакции переноса заряда на донорной стороне [1]. В настоящей работе те же исследования были осуществлены на фотоактивированных (Mn-реконструированных) ядерных комплексах ФС 2, лишенных марганцевого кластера. Основной вклад в генерацию $\Delta\Psi$ в реакционном центре ФС 2 вносит перенос электрона от редокс-активного аминокислотного остатка тирозина Y_Z к первичному хинонному акцептору Q_A . В адаптированных к темноте образцах, в кинетике фотоэлектрических ответов, индуцированных тремя последовательными вспышками света, помимо основной генерации $\Delta\Psi$, были обнаружены дополнительные генерации $\Delta\Psi$ с характерными временами ~40 мкс, 220 мкс и 5 мс. Эти фазы были приписаны к векторному переносу электрона при $S_1 \rightarrow S_2$, и протонов в случае $S_2 \rightarrow S_3$ и $S_4 \rightarrow S_0$ переходов кислород-выделяющего комплекса, соответственно. Полученные результаты впервые позволили выявить кинетики и вклады электрических потенциалов реакции переноса заряда при S-переходах для фотоактивированных лишенных Mn кластера комплексов ФС 2 и свидетельствуют, что эти реакции сходны с соответствующими реакциями в интактных образцах.

1. Semenov A., Cherepanov D., Mamedov M. / Photosyn. Res., 2008. V.98, P.121-130.

РЕГУЛЯЦИЯ ЭЛЕКТРОН-ТРАНСПОРТНЫХ ПУТЕЙ В КЛЕТКАХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

Regulation of electron transport in plant cells in stress condition

Плюснина Т.Ю., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б.

Московский государственный университет им. Ломоносова, Биологический ф-т, каф.

биофизики, 119992, Москва, Ленинские горы, д.1, стр.12.

Тел.: +7(495)939-02-89; факс: +7(495)939-11-15; e-mail: plusn@yandex.ru

В нормальных физиологических условиях основным потоком электронов в хлоропластах на свету является линейный транспорт электронов, осуществляемый в первичных процессах фотосинтеза. При наступлении неблагоприятных условий может происходить частичная инактивация фотосистемы II, линейный поток электронов уменьшается, при этом увеличивается поток электронов с восстановительных эквивалентов, образующихся в центральных метаболических путях, и активируется хлоропластное дыхание. В экспериментах голодания по сере для клеток водоросли *S. reinhardtii* показано, что такое изменение может происходить скачкообразно.

Предложен механизм переключения потоков электронов между фотосинтетической цепью и цепью хлоропластного дыхания. Предполагается, что такое переключение обусловлено нелинейной кинетикой функционирования фотосистемы II, в частности присоединением двух протонов к первичному хинону и накоплением образующихся дважды протонированных форм. Разработана математическая модель, описывающая восстановление пула пластохинонов, как потоком электронов с фотосистемы II, так и с восстановительных эквивалентов NAD(P)H, образующихся в центральном метаболизме. Модель представляет собой систему дифференциальных уравнений, переменными которой являются состояния фотосистемы II с различной степенью восстановленности. При определенных значениях параметров модели в системе реализуется триггерный режим, соответствующий сосуществованию двух устойчивых состояний. В первом устойчивом состоянии преобладает линейный транспорт электронов, во втором – хлоропластное дыхание. Показано, что управляющим параметром модели является соотношение окисленной и восстановленной форм пластохинона. При увеличении управляющего параметра в модели имеет место скачкообразное переключение системы из режима с преобладанием линейного транспорта в новый режим функционирования с преобладанием хлоропластного дыхания. Анализ метаболических процессов позволяет сопоставить переключение электронных потоков с переключением метаболических путей, в частности цикла Кальвина на гликолиз. Выдвигается гипотеза о том, что обратимое накопление дважды протонированных форм первичного хинона в условиях стресса выполняет защитную функцию, позволяя сохранять реакционные центры в неактивной форме, предотвращая их от разрушения, и реактивировать фотосинтез при наступлении благоприятных условий. Результаты моделирования качественно согласуются с экспериментально наблюдаемыми эффектами в растительных клетках, наблюдаемых в условиях стресса.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 11-04-01268-а.

ЭЛЕКТРОННЫЙ ПАРАМАГНИТНЫЙ РЕЗОНАНС ВЫСОКОГО ВРЕМЕННОГО РАЗРЕШЕНИЯ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ПЕРВИЧНЫХ ПРОЦЕССОВ ФОТОСИНТЕЗА

Time-resolved electron paramagnetic resonance studies of the primary processes of photosynthesis

Проскуряков И.И., Клемина И.Б.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 2
Тел.: +8(4967)73-28-80; факс: +8(4967)79-05-32; e-mail: pros@issp.serpukhov.su

В процессах передачи энергии в светособирающих антеннах и фотоиндуцированного переноса электрона в реакционных центрах фотосинтеза образуются и исчезают короткоживущие парамагнитные состояния молекул. Времена жизни некоторых из них лежат в интервале 10^{-7} – 10^{-3} с, который доступен для изучения с помощью метода ЭПР высокого временного разрешения (ВР-ЭПР). В докладе будет представлен обзор данных по исследованию первичных процессов фотосинтеза указанным методом. Особое внимание будет уделено процессам переноса энергии с участием каротиноидов светособирающих пигмент-белковых комплексов пурпурных фототрофных бактерий.

Фотоиндуцированные парамагнитные состояния, возникающие в процессе фотосинтеза, как правило образуются с неравновесной заселенностью ("поляризацией") спиновых подуровней. Эта неравновесность быстро (за времена порядка микросекунд) релаксирует. При этом теряется важная информация о механизмах образования парамагнитных продуктов. Исследовать такие состояния в нерелаксированном состоянии можно с помощью ВР-ЭПР. Возможности ВР-ЭПР иллюстрирует регистрация сигналов радикальной пары $[P^+I]$ бактериальных реакционных центров, время жизни которой в условиях ЭПР эксперимента составляет около 30 нс.

Образование триплетных состояний хлорофилльных пигментов в процессе фотосинтеза приводит к потерям энергии, поэтому их квантовый выход при нормально функционирующем фотосинтезе поддерживается на минимальном уровне. Тем не менее, локализуясь на молекулах, участвующих в переносе энергии и электронов, они несут информацию о взаимодействиях этих молекул, их природе и, в конечном счете, о механизмах первичных процессов. Метод ВР-ЭПР играет в исследовании триплетных состояний особую роль, поскольку именно в применении к триплетным состояниям пигментов характер спиновой поляризации спектров дает наиболее прямую информацию о процессах, предшествующих образованию триплетов. В докладе будут приведены данные по изучению триплетных состояний РЦ фотосистемы 2, где генерация триплетов хлорофилла подавляется даже в условиях прерывания функционального переноса электрона. Генерация триплетов в фотосистеме 2 особенно нежелательна из-за высокой вероятности переноса энергии на молекулу кислорода с образованием синглетно-возбужденного кислорода.

С помощью спектроскопии ВР-ЭПР удастся изучать короткоживущие (<10 мкс) триплетные состояния каротиноидов бактериальных светособирающих комплексов. Обнаружено возникновение триплетов при прямом возбуждении молекул каротиноидов, протекающее по механизму деления синглетного возбуждения на два триплета. Впервые показано, что в ходе этого процесса в магнитном поле происходит преимущественное заселение одного (T_0) спинового подуровня $^3\text{Кар}$. Данное наблюдение способствует выработке представлений о молекулярном механизме процесса синглет-триплетного деления возбуждения.

Работа проводится при поддержке грантами РФФИ 09-04-00925а, 12-04-00412а.

ДИНАМИКА ВОЗБУЖДЕНИЙ В ТРИМЕРАХ ФОТОСИСТЕМЫ 1 ИЗ *Arthrospira platensis* С ОКИСЛЕННЫМ И ВОССТАНОВЛЕННЫМ P700 ПРИ 77 К.

77 K Excitation dynamics in PS1 trimers of *Arthrospira platensis* with oxidized and reduced P700

Разживин А.П.¹, Шубин В.В.², Терехова И.В.², Компанец В.О.³, Козловский В.С.¹, Чекалин С.В.³, Каранетян Н.В.²

1 – НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ, 119992, Москва, Ленинские горы, НИИ ФХБ МГУ;

Тел.: +7(495)939-54-13; факс: +7(495)939-31-81; e-mail: razjivin@belozersky.msu.ru

2 – Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, 119071, Москва, Ленинский проспект 33;

Тел.: +7(495)954-14-73; факс: +7(495)954-27-32; e-mail: nkarap@inbi.ras.ru

3 – Институт спектроскопии РАН, 142190, г. Троицк Московской области;

Тел.: +7(496)751-02-37; факс: +7(496)751-08-86; e-mail: chekalin@isan.troitsk.ru

Исследовали низкотемпературную динамику синглетных возбужденных состояний в основной светособирающей антенне Хл680 и длинноволновых формах Хл710 и Хл735 тримеров ФС1 из *Arthrospira platensis* при разных редокс состояниях P700. Измерения проводили на абсорбционном фемтосекундном спектрометре Центра коллективного пользования «Опτικο-спектральные исследования» Института спектроскопии РАН. Препараты с восстановленным P700 получали медленным замораживанием образца в присутствии дитионита на свету. Препараты с окисленным P700 получали замораживанием в темноте в присутствии феррицианида. Редокс состояние P700 контролировали по 77 К спектрам флуоресценции: в тримерах с восстановленным P700 наблюдалось 10-кратное возрастание флуоресценции с пиком при 760 нм. Измерения фотоиндуцированных изменений оптического поглощения (“pump-probe”) образцов проводили в спектральной области 640-760 нм и временном диапазоне до 100 пс после подачи возбуждающего 620 нм импульса длительностью 70 фс. Зондирование осуществляли импульсами фемтосекундного континуума, частота следования импульсов возбуждения/зондирования 1 кГц.

Показано, что за время, соизмеримое с длительностью возбуждающего/зондирующего фс импульса, развивается выцветание основного антенного хлорофилла в области 680 нм, которое релаксирует с постоянной времени порядка 3 пс (при аппроксимации одной экспонентой) или с постоянными времени порядка 1,3 пс (70%) и 7,0 пс (30%) (при аппроксимации двумя экспонентами). Выцветание в полосах поглощения длинноволновых форм Хл710 и Хл735 запаздывает относительно выцветания Хл680 примерно на 1 пс и развивается параллельно с релаксацией выцветания Хл680 за то же время (несколько пикосекунд). Независимо от редокс состояния P700, возбуждение на Хл710 и Хл735 появляется практически одновременно; последующая дезактивация возбуждений в этих полосах происходит примерно с одинаковыми постоянными времени ~70-80 пс. Полученные данные указывают на то, что длинноволновые формы Хл710 и Хл735 возбуждаются преимущественно путем переноса возбуждения с основной массы светособирающего хлорофилла и не свидетельствуют в пользу ступенчатого переноса возбуждений от Хл680 к Хл710 и затем к Хл735.

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАЗВУКА НА ФОРМИРОВАНИЕ МИКРОЧАСТИЦ ЛЬДА Influence of ultrasound on ice microparticles formation

Садикова Д.Г., Андреев А.А.

Институт Биофизики клетки РАН, 142290, г. Пущино, Московская обл., Институтская 3.
Тел.: +7(4967)73-94-89; E-mail: sdg7@list.ru

В процессе криоконсервации живых клеток с использованием сверхнизких температур (-196°C) значительное влияние на последующую жизнеспособность после оттаивания может оказать формирование льда в ходе замерзания криозащитных растворов. Одним из факторов оказывающих влияние на степень повреждения замораживаемого материала, являются форма и размер микрочастиц льда. Внешние условия существенно изменяют формирование частиц льда при замерзании водных растворов, это позволяет улучшать эффективность криозащитных растворов, используя дополнительные физические воздействия.

В нашей работе исследовалось влияние ультразвуковой волны, частотой 0.88 МГц и интенсивностью 1 Вт/см^2 , на формирование микрочастиц льда различных криопротекторов при замерзании их в тонком слое (0.2 мм). Для замораживания растворов использовались камеры Фукс-Розенталя. Контролем являлись пробы, замораживаемые без ультразвукового излучения.

Используемые растворы: физиологический раствор для осетровых рыб (ФР), 10 % диметилсульфоксида на физиологическом растворе (ФР + ДМСО), 10 % диметилсульфоксида и 10 % яичного желтка на физиологическом растворе (ФР + ДМСО + ЯЖ). Для сравнения брали дистиллированную воду (H_2O).

С помощью видеокамеры криомикроскопа регистрировали сформированные микрочастицы льда при температуре -196°C . Размер частиц льда (по площади и периметру микрочастиц льда вычисляли безразмерный параметр - фактор формы, характеризующий степень округлости частиц) определяли при обработке изображения программой Tgase 1.24b. В результате обработки данных получили основной параметр для анализа изменения характера образования льда – фактор формы (контроль - F_k , ультразвук - F_{us}). $\text{H}_2\text{O} - F_k = 0,8153, F_{us} = 0,8562$; ФР - $F_k = 0,8457, F_{us} = 0,8631$; ФР + ДМСО - $F_k = 0,9311, F_{us} = 0,916$; ФР + ДМСО + ЯЖ - $F_k = 0,9521, F_{us} = 0,9735$.

Показано, что ультразвук оказывает влияние на формирование микрочастиц льда. В большинстве случаев фактор формы увеличивался, это говорит о том, что под воздействием ультразвуковой волны формируются микрочастицы льда более округлой формы. Образование льда, в котором, при прочих равных условиях формируются, более округлые частицы способствует повышению выживаемости клеток в процессе криоконсервации–оттаивания.

Можно предположить, что воздействие ультразвука в ходе замораживания криозащитных растворов будет способствовать лучшей сохранности замораживаемых клеток.

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ И ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Electrochemical and chemiluminescence methods of estimation of blood plasma antioxidant properties

Сажина Н.Н.¹, Теселкин Ю.О.²

1 - Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4.

Тел.: +7(495)939-74-18; факс: +7(499)137-01-41; e-mail: Natnik48s@yandex.ru

2 - ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздравсоцразвития России, 117869, Москва, ул.

Островитянова, 1. Тел.: +7(495)434-81-92; e-mail: teselkin-box@mail.ru

Изучение антиоксидантных свойств плазмы крови человека является важной задачей для медико-биологических исследований, поскольку они определяют «антиоксидантный статус» человека, т.е. защитную систему организма для борьбы с окислительным стрессом. Плазма крови является сложной субстанцией для исследований, и под суммарной антиоксидантной активностью (АОА) понимается интегральная величина, характеризующая потенциальную возможность антиоксидантного действия всех компонентов плазмы с учетом синергизма и антагонизма их кооперативного действия.

Два электрохимических метода: вольтамперометрический и амперометрический использовались для определения суммарной АОА плазмы крови 30 пациентов обычной поликлиники разного возраста, пола и патологии параллельно с измерением в ней суммарного содержания антиоксидантов. В первом методе [1] в качестве модельной реакции используется процесс электровосстановления кислорода на ртутно-пленочном электроде, идущий по механизму, аналогичному восстановлению кислорода в живых клетках, а за критерий АОА принимается параметр, отражающий концентрацию кислорода и его активных радикалов, прореагировавших с антиоксидантами (АО) за единицу времени. Второй метод [2] позволяет определить в пробах плазмы крови суммарное содержание фенольных АО. Оба эти метода оперативны и просты в исполнении. Анализ результатов измерений, полученных в работе, свидетельствуют о том, что в плазме крови большинства пациентов присутствует достаточное количество фенольных соединений, которые определяют доминирующие процессы взаимодействия компонентов плазмы крови с кислородом и его радикалами и характер полученных вольтамперограмм. Разброс значений АОА плазмы крови пациентов составил 3-4 раза, что свидетельствует об их различном «антиоксидантном статусе». Коэффициент корреляции между результатами, полученными при использовании указанных методов, составил $r=0,8141$.

В хемилюминесцентном методе измерения АОА плазмы крови использовалась схема окисления системы «гемоглобин - пероксид водорода - люминол» [3]. Отличительной особенностью этой системы от других окислительных систем является то, что образующиеся в ней радикалы могут инициировать свободнорадикальные реакции *in vivo*. Для реализации данного метода был использован прибор «Lum-5773». За критерий АОА плазмы крови принималось значение тангенса угла наклона прямой, описывающей зависимость латентного периода действия ингибитора хемилюминесценции от его концентрации. Сравнительный анализ результатов измерения АОА плазмы крови 6 здоровых доноров в возрасте 22-27 лет показал, что критерий АОА меняется в 2-4 раза для разных доноров, причем более активная плазма крови наблюдается у доноров-мужчин. Ингибирующая активность депротенинизированного супернатанта плазмы крови доноров значительно (в 5-10 раз) ниже общей активности плазмы крови и отличается у всех доноров не более чем в 2 раза.

Использованные в работе методы могут использоваться для оперативного определения «антиоксидантного статуса» больных и контроля его динамики в процессе лечения.

1. Korotkova E.I., Karbainov Y.A., Avramchik O.A. / Anal. and Bioanal. Chem., 2003. V. 375. № 1. P. 465-471.

2. Яшин А.Я. / Российский химический журнал, 2008. Т. LI. №2. С. 130-135.

3. Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В., Любичкий О.Б. и др. / Вопр. мед. химии, 1998. Т. 44, №1. С. 70-76.

ВЛИЯНИЕ АМИЛОИДНЫХ ПРОТОФИБРИЛЛ НА ЭРИТРОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА IN VITRO

Amiloid protophibrills influence on human erythrocytes in vitro

Слобожанина Е.И., Лукьяненко Л.М., Зубрицкая Г.П., Венская Е.И.

– ГНУ Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, 220072, Минск, ул.

Академическая, 27;

Тел: +375(172) 842633; факс: +375(172) 842359; e-mail: Slobozhanina@ibp.org.by

Механизмы токсического действия амилоидов на мембраны клеток крови исследованы недостаточно. Для изучения мембранных эффектов амилоидных белков широко используют эритроциты в качестве модельных систем.

В данной работе исследовано влияние амилоидов на везикуляцию эритроцитов, уровень белковых SH-групп, структурное состояние интегрального белка полосы 3, а также на физико-химические свойства липидов в мембранах эритроцитов человека. Амилоидные структуры были получены путем выдерживания раствора лизоцима в 10 мМ HCl при 65°C в течение 14 суток при постоянном перемешивании. Контроль за процессом образования амилоидов проводили ежедневно флуоресцентным методом с использованием тиофлавина Т. Уровень SH-групп в мембранных белках определяли с помощью N-(1-пирен)-малеимида, а также реактива Элмана. Оценку состояния белка полосы 3 в мембранах эритроцитов проводили с помощью 4-4,-диацетамидо-2,2,-стильбендисульффоната (ДИДС), специфически взаимодействующего с белком полосы 3. Об изменении физико-химических свойств мембранных липидов судили по параметрам флуоресценции липофильных зондов – 1-(4-триметиламмоний-фенил)-6-фенил-1,3,5-гексатриена, пирена и лаурдана, встроенных в мембраны эритроцитов, а также по уровню образования продуктов ПОЛ (по ТБК-тесту).

Показано, что амилоидные структуры, воздействуя на эритроциты человека *in vitro*, индуцируют повышение отделения от эритроцитов части мембранного материала - бесспектриновых везикул и снижение в среднем на 20% количества SH-групп мембранных белков по сравнению с клетками, предварительно обработанными раствором лизоцима. Выявлено, что инкубация эритроцитов человека в течение 3ч при 37°C с амилоидными структурами снижала интенсивность флуоресценции ДИДС, включенного в эритроциты. Так как ДИДС преимущественно связывается с цитоплазматическим доменом интегрального белка полосы 3, то снижение интенсивности его флуоресценции можно объяснить уменьшением количества мест связывания для ДИДС в мембранах эритроцитов, подвергшихся воздействию амилоидных структур.

Анализ параметров флуоресценции липидных зондов и количества продуктов ПОЛ в мембранах показал, что амилоидные структуры влияют на микровязкость мембранных липидов.

Полученные результаты позволяют заключить, что амилоидные структуры, взаимодействуя с эритроцитами человека *in vitro*, модифицируют структурное состояние белков и физическое состояние липидного бислоя мембран, не повышая в клетках уровня активных форм кислорода.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ, грант № Б11К– 152.

СВОЙСТВА МОНОМЕРНОЙ ФОРМЫ УНИВЕРСАЛЬНОГО АДАПТЕРНОГО БЕЛКА 14-3-3

Properties of the monomeric form of universal adaptor protein 14-3-3

Случанко Н.Н.^{1,2}, Судницына М.В.², Гусев Н.Б.²

1-Институт биохимии им. А.Н. Баха, 119071, Москва, Ленинский проспект 33

2-Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12, кафедра биохимии

Тел.: +7(495)952-13-84; e-mail: nikolai.sluchanko@mail.ru

Белки семейства 14-3-3 широко распространены у эукариот и обладают способностью специфически связывать более 300 белков-партнеров, содержащих фосфорилированные остатки серина/треонина в консенсусных мотивах вида (R/K)X₂₋₃(pS/pT)X(P/G). Это позволяет белкам 14-3-3 участвовать в регуляции многих важных клеточных процессов, таких как апоптоз, клеточное деление, внутриклеточная передача сигнала, в работе ионных каналов и т.д. Принято считать, что белки 14-3-3 функционируют в виде димеров, причем наличие у одного организма нескольких изоформ позволяет образовывать гомо- и гетеродимеры разного состава, что, предположительно, расширяет репертуар функций 14-3-3. Для большинства функций 14-3-3 необходима димерная структура белка, и было показано, что фосфорилирование серина-58, находящегося в зоне контакта субъединиц в димере, приводит к его частичной диссоциации до мономеров. Несмотря на обилие гипотез о структуре и функциях мономеров, их свойства оставались крайне слабо изученными. Кроме того, из-за высокой стабильности димеров 14-3-3 отсутствовала подходящая модель мономерного состояния белка.

Путем сайт-направленного мутагенеза мы получили мутантную форму белка 14-3-3 с минимальным количеством аминокислотных замен, предположительно дестабилизирующих димер, и проанализировали свойства такого рекомбинантного мутанта (14-3-3 ζ_m) с помощью различных биохимических и биофизических методов. По данным спектроскопии кругового дихроизма оказалось, что 14-3-3 ζ_m обладает вторичной структурой, практически неотличимой от структуры белка дикого типа. В то же время по данным нативного электрофореза, химического «сшивания» и гель-фильтрации 14-3-3 ζ_m оставался полностью мономерным в широком диапазоне концентраций. Получив подходящую модель мономерной формы белка, мы исследовали его стабильность. Оказалось, что по сравнению с димером мономер 14-3-3 обладает значительно сниженной устойчивостью к ограниченному трипсинолизу и химотрипсинолизу, а также имеет существенно сниженную термостабильность. С помощью флуоресцентного зонда бис-АНС удалось обнаружить, что мономер обладает повышенной гидрофобностью по сравнению с белком дикого типа, что может быть связано с экспонированием гидрофобных контактов, расположенных в зоне контакта субъединиц в димере. Полученная мономерная форма была неспособна связывать фосфорилированный тау белок, однако взаимодействовала с фосфорилированным малым белком теплового шока HspB6 (Hsp20) со сродством, не меньшим, чем димерный белок дикого типа.

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ЛИГНИНОЛИТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА СВЕТЯЩЕГОСЯ ГРИБА *Neonothopanus nambi*

Activity of enzymes the ligninolytic complex of luminous fungus *Neonothopanus nambi*

Тюлькова Н.А.^{1,2}, Медведева С.Е.^{1,2}, Бондарь В.С.^{1,2}

¹ – Институт биофизики СО РАН, Красноярск, 660036, Академгородок, 50, стр.50

² – Сибирский федеральный университет, 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79

Тел.: [8\(391\)2494195](tel:8(391)2494195); факс: [8\(391\)2433400](tel:8(391)2433400); e-mail: biotech@ibp.ru

Ранее, нами высказано предположение о хемилюминесцентной природе свечения высших грибов и возможном участии в регуляции свечения ферментов лигнинолитического комплекса [1].

Исследована динамика активности лакказы и пероксидазы в культуральной среде и биомассе мицелия *N. nambi* при его выращивании на жидкой питательной картофельно-декстрозной среде при температуре 27°C.

При росте мицелия активность изучаемых ферментов выявляется как в культуральной среде, так и в биомассе гриба. Показано, что изменения активности лакказы и пероксидазы при росте мицелия различаются: уровень лакказной активности возрастает, пероксидазной – варьирует в широких пределах.

Установлено, что при росте мицелия его удельное свечение может меняться в широком диапазоне - от фонового до видимого глазом. Однако после экспозиции образцов мицелия в деионизованной (DI) воде в течение ночи свечение возрастает на порядки, что подтверждает полученные нами ранее данные [2]. Следует отметить, что после инкубации в воде свечение на единицу биомассы у образцов молодого мицелия (3-5 дней культивирования) значительно превышает этот показатель у образцов старого мицелия (18 - 20 дней выращивания).

Установлено, что экспозиция образцов мицелия в DI воде в течение суток сопровождается резким уменьшением активности лакказы и пероксидазы в биомассе гриба, вероятно, за счет их вымывания в водную среду. В воде после вымачивания образцов гриба зарегистрирована высокая лакказная активность.

Полученные данные свидетельствуют в пользу участия лакказы и пероксидазы в механизмах регуляции свечения гриба *N. nambi*. Исходя из гипотезы о хемилюминесцентной природе свечения высших грибов [1], очевидно, что в этом процессе участвуют активные формы кислорода (АФК). В нашем исследовании экспозицию мицелия в воде можно рассматривать как модельную стрессовую ситуацию, активирующую в грибе образование АФК. Вероятно, наблюдаемое при этом значительное повышение излучения опосредовано снижением уровня активности лакказы и пероксидазы, метаболизирующих АФК.

Работа поддержана Федеральным агентством по науке и инновациям в рамках Федеральной целевой программы (Государственный контракт № 02.740.11.0766), Программой Правительства РФ «О мерах по привлечению ведущих ученых в учебные заведения России» (грант № 11. G34.31.058), Президиумом СО РАН (проект № 71).

1. Bondar V.S., Puzyr A.P. et. al. / Luminescence., 2012. V.27. P.101-102.

2. Bondar V.S., Puzyr A.P. et. al. / Dokl. Biochem. Biophys., 2011. V.438. P.138-140.

ВЛИЯНИЕ БАФИЛОМИЦИНА НА СИНАПТИЧЕСКУЮ ПЕРЕДАЧУ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА КРЫС

Influence of bafilomycin on synaptic transmission in pyramidal neurons of rat's hippocampal

Тюрикова О.В.¹, Лебедева А.В.¹, Семьянов А.В.^{1,2}

1 – Нижегородский Государственный Университет им. Н.И.Лобачевского, Нижний Новгород, Россия, 603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

2 – Институт Мозга Рикен, Wako-shi, Saitama, Япония, 351-0198, 2-1 Hirosawa

Тел.: +79081536717, e-mail: tyurikova11@yandex.ru

Объектом исследования в данной работе являются срезы гиппокампа крыс. Гиппокамп (от греч. *Hippocampus* - морской конёк) - парная структура, расположенная в височном отделе полушарий головного мозга, часть лимбической системы. Гиппокамп участвует в механизмах формирования памяти, в частности в механизмах консолидации кратковременной памяти в долговременную, а также в механизмах обучения. В связи с этим, данная структура мозга часто используется в электрофизиологических исследованиях.

Регистрации потенциалов от целых групп нейронов (популяционный спайк) или от групп синапсов (полевой ВПСП) является важным методом в изучении нормальной электрической активности нервных клеток или их активности при патологиях.

Непосредственно для регистрации потенциалов используются два внеклеточных электрода. Первый электрод – регистрирующий. Он заполняется раствором Рингера и устанавливается в поле *str. radiatum*. С помощью данного электрода записывается суммарный потенциал, возникающий при активации группы возбуждающих синапсов (пВПСП) и потенциал пресинаптических волокон (пВ) в ответ на электрическую стимуляцию. Вторым электродом - стимулирующим. В данной работе используется монополярный электрод из нержавеющей стали. Стимулирующий электрод устанавливается также в поле *str. radiatum* на некотором расстоянии от регистрирующего электрода, он стимулирует как возбуждающие, так и тормозные аксоны.

В ходе работы, были произведены эксперименты по влиянию бафиломицина на синаптическую передачу нейронов. Изначально эксперимент проводился без добавления бафиломицина. В ответ на электрическую стимуляцию были зарегистрированы потенциалы пВ и ВПСП. Вторая часть эксперимента проводилась при добавлении бафиломицина - были зарегистрированы только потенциалы пВ и отсутствовали ВПСП. Это свидетельствует об отсутствии синаптической передачи, так как бафиломицин является ингибитором для H^+ - АТФазы, с помощью которой происходит заполнение везикул нейромедиаторами.

ДОДЕЦИЛОВЫЙ ЭФИР ФЛУОРЕСЦЕИНА КАК РАЗОБЩИТЕЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ

Fluorescein dodecyl ester as an uncoupler of oxidative phosphorylation

Щепинова М.М., Котова Е.А., Хайлова Л.С., Коришунова Г.А., Антоненко Ю.Н.

НИИФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40

Тел.: +7(495)939-54-13; факс: +7(495)939-31-81; e-mail: kotova@genebee.msu.ru

С целью создания интенсивно флуоресцирующего протонофора синтезированы два производных флуоресцеина с додецил- (C12-FL) и бутил- (C4-FL) остатками, присоединенными к флуоресцеину по карбоксильной группе. Протонофоры являются разобщителями окислительного фосфорилирования митохондрий и используются для изучения энергозависимых процессов в клетках. Для синтеза соединений проводили реакцию между цезиевой солью флуоресцеина и бромистым додецилом или бромистым бутилом. Структура полученных соединений подтверждалась данными масс-спектрологии и протонного ЯМР. Синтезированные и очищенные сложные эфиры флуоресцеина, C12-FL и C4-FL, проявляли рН-зависимость интенсивности флуоресценции, характерную для исходного флуоресцеина, с рК около 6-7. Связывание флуоресцеина и его производных с искусственными липидными мембранами определяли по поляризации флуоресценции. При добавлении красителей к липосомам из яичного фосфатидилхолина существенное увеличение поляризации флуоресценции наблюдалось только в случае C12-FL. Таким образом, C12-FL проявляет высокое сродство к мембранам, тогда как C4-FL, подобно исходному флуоресцеину, не связывается с мембранами. Измерения тока на плоской бислойной липидной мембране (БЛМ) показали, что C12-FL, в отличие от C4-FL, способен индуцировать ток протонов через БЛМ, т.е. обладает свойствами протонофора. С помощью метода флуоресцентной корреляционной спектроскопии продемонстрирована способность C12-FL (в отличие от C4-FL) накапливаться в изолированных митохондриях. В экспериментах по регистрации мембранного потенциала митохондрий с использованием потенциал-зависимого флуоресцентного зонда DiS-C3-(5) обнаружено, что субмикромольные концентрации C12-FL вызывают падение мембранного потенциала; следовательно, C12-FL является сильным разобщителем. В случае C4-FL действие на мембранный потенциал было существенно менее выражено, а исходный флуоресцеин не оказывал влияния на потенциал.

СТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МУТАНТНОГО РЕАКЦИОННОГО ЦЕНТРА ИЗ *Rhodobacter sphaeroides* L(M196)Н С РАЗРЕШЕНИЕМ 2.55 Å

Structural studies of mutant reaction center from *Rhodobacter sphaeroides* L(M196)Н at 2.55 Å resolution

Габдулхаков А.Г.¹, Фуфина Т.Ю.², Васильева Л.Г.², Шувалов В.А.²

1 - Институт белка РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 4;

2 - Институт фундаментальных проблем биологии РАН, 142290, Пущино, ул. Институтская, 2;

Тел.: +7(4967)31-81-84; факс: +7(495)514-02-18; e-mail: azat@vega.protres.ru

Пигмент-белковые взаимодействия, в результате которых происходит первичное преобразование и перенос энергии, являются основой процесса фотосинтеза. Нашей задачей является исследование воздействия целенаправленных изменений в контактных поверхностях окружения первичного донора электрона (специальной пары бактериохлорофилла) на свойства реакционного центра пурпурной бактерии *Rba. sphaeroides*. Известно, что лигандом атома магния молекул бактериохлорофиллов в реакционных центрах всегда служат аминокислотные остатки гистидина. В реакционном центре *Rba. sphaeroides* атомы магния молекул бактериохлорофиллов первичного донора электрона образуют координационную связь с гистидином в положении L173 (для РА) и M202 (для РВ). В отсутствие лигандов со стороны белкового окружения молекулы бактериохлорофилла утрачивают атом магния и превращаются в бактериофеофитин. Основываясь на данных о структуре реакционного центра дикого типа, были определены позиции, где, в отсутствие нативного лиганда, встраивание аминокислотного остатка гистидина может способствовать образованию координационной связи с атомом магния молекул бактериохлорофиллов специальной пары. В качестве положения, с оптимальным расстоянием для образования координационной связи была выбрана M196 позиция реакционного центра. В качестве первого этапа методом направленного мутагенеза была проведена замена лейцина M196 на гистидин. Препарат был выделен и очищен в количестве достаточном для кристаллизации. Получены кристаллы гексагональной формы и с них на синхротроне BESSY (Берлин) были сняты дифракционные данные. Методом рентгеноструктурного анализа с разрешением 2.55 Å (Rfactor=22.9%, Rfree=25.7%, r.m.s.d. длин связей – 0.01 Å, валентных углов –1.7°, соответственно) впервые определена и уточнена пространственная модель мутантной формы реакционного центра из *Rhodobacter sphaeroides*. Структура была получена методом молекулярного замещения, в качестве стартового образца использовалась структура реакционного центра из *Rhodobacter sphaeroides* штамм RV дикого типа.

Следующим этапом планируются замена нативного лиганда His-M202 на аминокислотный остаток лейцина.

Работа проводилась при финансовой поддержке Федерального агентства по науке и инновациям Российской Академии Наук, программы «Молекулярная и клеточная биология», гранта Президента Российской Федерации № НШ-307.2012.4, РФФИ 12-04-00332-а. Кристаллографическая часть работы выполнена при финансовой поддержке Российской академии наук и Программы «Молекулярная и клеточная биология» Президиума РАН.

ЭЛЕКТРИЧЕСКОЕ ПОЛЕ, КАК ФАКТОР МЕМБРАННОГО УПОРЯДОЧЕНИЯ

Electrical field – factor of membrane regulate

Красиков Н.Н., Астахин А.С.

Ивановский государственный университет.

153025, г. Иваново, ул. Ермака, 39,

Тел: 8(49232) 3-12-75

Электрические поля (ЭП) в растениях связываются с ионными процессами на границе мембран, где напряженность близка к пробойной.

Стебель растения характеризуется анизотропией физических свойств, из которых наиболее интересны электрические; они должны коррелироваться с биологическими процессами развития соответствующих растений. Можно предположить, что разность потенциалов на макроскопических расстояниях (1,0-2,0) см отражает интегрально поля микрочастиц, включая прежде всего мембранные системы.

Разность электрических потенциалов представляется основной сравнительно с другими электрическими параметрами, как-то сопротивление и ток, поскольку при измерении последних используется внутренний источник прибора, влияющий на процессы в ткани растения.

Современная измерительная аппаратура имеет высокую чувствительность и точность, что позволяет измерять величины малые, имеющие колебания. При измерениях необходимо иметь пару абсолютно идентичных электродов, имеющих одинаковый контакт с растением. При этом исключаются помехи, одинаково действующие на оба измерительных электрода.

Установлена разность потенциалов обоих знаков, которая изменяется в зависимости от действующей температуры и освещения, от деформации стебля и корня. Кроме того, влияет электрическое поле атмосферы, либо осуществленное от внешнего источника ЭП. Представляет интерес движение ионов и «комплексов с переносом заряда» по ксилеме и флоэме. Интересна роль молекул воды и растворимых в ней неорганических и органических веществ, также когда имеет место процесс набухания.

Наконец, интересно появление переменного напряжения звуковых частот, которое может либо характеризовать само растение, либо его отклик на внешние частоты.

Можно предположить, что переменное напряжение возникает и изменяется в зависимости от величины постоянного напряжения, сопротивления R и емкости C межэлектродного зазора. При этом реализуется известная система RC - генератора и частота автоколебаний определяется как $f=1/2\pi RC$. О д н а к о отмеченное явление требует дополнительных исследований на различных растениях и с разными приборами.

ЭЛЕКТРОСТИМУЛИРОВАНИЕ РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ

Electrostimulate development of plants

Красиков Н.Н., Еремин А.А., Астахин А.С.

Ивановский государственный университет.

153025, г. Иваново, ул. Ермака, 39.

Тел.: 8(49232) 3-12-75

Растительные организмы для своего роста и развития потребляют питающие вещества из окружающей среды в виде водных растворов и газообразных систем, включая дисперсии.

В природных условиях действуют разные по частоте электромагнитные поля, из которых наиболее известно магнитное. Однако в реальной атмосфере действуют и статистические электрические поля (ЭП), направленные сверху- вниз. Их напряженность обычно составляет около 100 В/м и может колебаться в зависимости от внешних условий, возрастая особенно при грозах. Наблюдательные люди могут отметить благотворное действие грозового дождя на растения.

Задача настоящей работы - попытка обеспечить оптимальное развитие растений при действии электрических полей высокого напряжения (ВН) самостоятельно и в комбинации с другими факторами воздействия при условии исключения генетических и экологических изменений, т.е. усилить природное воздействие ЭП.

Нами уделяется основное внимание электрополевому воздействию ВН на воду и воздушную среду при проращивании семян и поливе растений. При этом вода заливается в диэлектрический сосуд (стекло, полимеры и пр.). Нижний электрод помещается под днищем, а верхний - над жидкостью с воздушным зазором (см . прилагаемую схему). Таким образом, образован трехслойный конденсатор, в котором практически отсутствует электрический ток, а на воду действует электрическое поле, упорядочивая расположение молекул(образование кластеров, ассоциатов), на растворенные вещества и коллоидные образования, в том числе питающие добавки. Это приводит к «структурированию воды», что не следует путать с широко рекламируемой «живой и мертвой» водой, образуемой при электролизе, т.е когда идет ионный ток.

Наилучший результат - время обработки, ее характер достигаются экспериментально на конкретных объектах (растениях). Установлено оптимальное направление поля сверху - вниз («+» - электрод находится над водой), т.е. направление искусственного поля совпадает с естественным полем в атмосфере Земли.

Практическое отсутствие тока в предложенной установке электрообработки, т.е, электрополевое , поляризационное воздействие на нее требует малой мощности источника напряжения в пределах единиц Вт, однако необходимо ВН допробойной величины. При этом преобразователь (источник) может питаться как от сети, так и от обычных батарей. На выходе устройства используется известная в электронике «схема умножения».

У нас имеется набор источников ВН с напряжением от 13 кВ до 60 кВ, с потребляемой мощностью, не превосходящей (2-7) Вт. Эти установки также используют для активации газообразных сред. Они электробезопасны и экологичны. Имеется возможность использовать неоднородные ЭП на игольчатых электродах.

Таким образом, электрополевая обработка в данном случае представляет малоэнергетичный, биологически эффективный метод стимулирования развития растений на разных стадиях, начиная с проращивания семян. Настоящий метод позволяет уменьшить потребность в удобрениях, либо вообще отказаться от них.

АДСОРБЦИЯ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ ЧЕЛОВЕКА НА ПЕРФТОРУГЛЕРОДНЫХ ЭМУЛЬСИЯХ, СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ РАЗЛИЧНЫМИ ПАВ НА ОСНОВЕ ПОЛИОКСИЭТИЛЕНА-ПОЛИОКСИПРОПИЛЕНА

Adsorption of human plasma proteins on perfluorocarbon emulsions stabilized with different surfactants based on polyoxyethylene-polyoxypropylene

Жалимов В.К., Склифас А.Н., Капцов В.В., Кукушкин Н.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики клетки РАН, 142290, Московская обл., г. Пущино, ул. Институтская 3
Тел.: +7(4967)73-95-23; факс: +7(4967)33-05-09; e-mail: student-iam@mail.ru

Дисперстные формы лекарственных веществ часто вводятся в кровоток. При этом наблюдается сорбция значительного количества плазменных белков на поверхности частиц, что может приводить к побочным реакциям. Известно, что сорбция белков зависит от поверхностного слоя частиц. Так на перфторуглеродных (ПФУ) эмульсиях, стабилизированных неионогенными ПАВ на основе полиоксипропилена-полиоксиэтилена (проксанолы), наблюдается значительная сорбция, в то время как на ПФУ эмульсиях, стабилизированных фосфолипидами, адсорбция практически не происходит.

В связи с тем, что в литературе нет сведений относительно изменений адсорбции при замене одного проксанола на другой, отличающийся лишь числом мономеров цепи, нами была сформулирована следующая цель – изучить состав и количество адсорбированных белков плазмы человека на поверхности ПФУ эмульсии, стабилизированных следующими ПАВ: проксанол 268 и 168, Synperonic® F108, Pluronic® P123.

Как показали наши эксперименты, состав сорбированных белков и их количество существенно различно для используемых эмульсий. Так на поверхности эмульсии, стабилизированной Pluronic® P123, адсорбируются только белки с массой выше 50 кДа (IgG, Fп, фибриноген). На эмульсии, стабилизированной Synperonic® F108, – белки с массой от 25 до 50 кДа, при этом не наблюдается адсорбция высокомолекулярных белков. Состав белков, адсорбированных на эмульсии, стабилизированной проксанолом 168, соответствует составу белков, адсорбированных на эмульсии, стабилизированной проксанолом 268. Необходимо отметить, что, несмотря на идентичный состав белков, адсорбированных на эмульсиях, стабилизированных проксанолами 268 и 168, соотношение между адсорбированными белками меняется. Исследуя количество адсорбированных белков, мы выяснили, что наибольшая сорбционная емкость наблюдается у эмульсий, стабилизированных проксанолами 268 и 168 (~70 мкг/см² для обеих эмульсий), а наименьшая у эмульсии, стабилизированной Pluronic® P123 (15 мкг/см²).

Анализируя полученные данные по количественной адсорбции можно сделать заключение, что между размером гидрофобной части молекулы ПАВ и количественной сорбцией белка наблюдается обратно пропорциональное соотношение с коэффициентом корреляции –0.97. Вероятно, что наличие большой гидрофобной площадки и коротких гидрофильных концов (Pluronic® P123) приводит к тому, что происходит образование плотного слоя ПАВ на поверхности гидрофобного ядра, что препятствует закреплению белков на поверхности частицы.

ИНФОРМАТИВНОСТЬ ПАРАМЕТРОВ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ РАСТЕНИЙ ПРИ ОЦЕНКЕ ИХ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ И УСТОЙЧИВОСТИ К СТРЕССАМ

Informative parameters of bioelectrical reactions of plants in the assessment of functional status and resistance to stresses.

Паничкин Л.А.¹; Красавина М.С.²

¹ – РГАУ-МСХА им. К.А.Тимирязева, 127550, Москва, ул. Тимирязевская, 47

² – ИФР РАН им. К.А.Тимирязева, 127276 Москва, ул. Ботаническая, 35
Тел. +7(499)976-20-54; факс +7(499)976-20-54; e-mail: leon.pani4kin09@yandex.ru

Для сравнительной оценки устойчивости растений к температурным стрессам, диагностики их функционального состояния использовали параметры биоэлектрических реакций (БЭР) на стандартное раздражение листа [1,3,5]. Наибольшую информативность дают параметры местных (БЭР), отражающие специфику раздражающего фактора и функциональные особенности растений [4]. Распространяющиеся БЭР – потенциалы действия, формирование которых подчиняются закону «все или ничего», выполняют сигнальную функцию и менее значимы для характеристики специфичности ответных реакций растений.

Сравнивали БЭР семядольного и первого настоящего листа огурца (*Cucumis sativus*) сорта ТСХА-440 на тепловое инфракрасное излучение лазером ЛТН-101 и БЭР, регистрируемые при касании листа влажным измерительным электродом. Амплитуда и характер ответной реакции листа зависели от силы и специфики раздражения. При смачивании листа параметры БЭР определялись функциональным состоянием и напряженностью водного режима растения. Реакция была импульсной, однофазной, обусловленная резким натяжением водных нитей, вызывавшим раздражение плазмалеммы клеток листа [2]. На кратковременное лазерное раздражение листа наблюдалась лишь небольшая гиперполяризация 8 -10 мВ, по-видимому, связанная с выбросом клетками воды. С увеличением продолжительности облучения реакция начиналась с деполяризации и была двухфазной из-за раздражения лазерным излучением как плазмалеммы, так и тонопласта [3].

Локальное импульсное охлаждение листа огурца (Емеля и Мазай) с помощью термоэлектрического столика ТОС-1 вызывало местную БЭР, параметры которой (амплитуда и скорость реполяризации) позволяли оценивать сортовые особенности чувствительности к пониженным температурам и характеризовать особенности устойчивости к холодному стрессу донорных и акцепторных листьев огурца [1].

1. Паничкин Л.А., Прудников Г.А., Красавина М.С. / Известия ТСХА, 2009, Вып. 4. С. 133-137.
2. Паничкин Л.А., Черницкий М.Ю., / Физиология растений, 1991. Т. 38, вып. 2. С.371-380.
3. Паничкин Л.А., Черницкий М.Ю. // Сб. н. тр. М. Изд. ТСХА, 1988. С. 82-90.
4. Прудников Г.А., Паничкин Л.А. Красавина М.С. / Физиология растений, 2010, Т. 57, № 6. С. 1–11.
5. Черницкий М.Ю., Паничкин Л.А. / Физиология растений, 1994. Т. 41, № 3. С.390-394.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Агапов И.И.	22	Мамедов М.Д.	24
Андреев А.А.	28	Маренный А.М.	8
Антоненко Ю.Н.	22, 34	Мартиросова Е.И.	20
Артемьев М.В.	21	Махнева З.К.	10
Артюхов В.Г.	13, 14	Медведева С.Е.	32
Астафуров В.И.	7, 8, 9	Мойсенович М.М.	22
Астафурова М.В.	9	Москаленко А.А.	10
Астахин А.С.	36, 37	Мочалов К.Е.	21
Ашихмин А.А.	10	Набиев И.Р.	21
Батяновский А.В.	12	Намиот В.А.	12
Башарина О.В.	13, 14	Олейников В.А.	21
Беленикина Н.С.	15	Ольшевская В.А.	22
Бондарь В.С.	32	Омарова Е.О.	22
Буравлев Е.А.	11	Осипов А.А.	23
Васильева Л.Г.	35	Осипов А.Н.	11
Венская Е.И.	30	Паничкин Л.А.	39
Владимиров Ю.А.	11	Петрова И.О.	24
Волотовский И.Д.	12	Плащина И.Г.	20
Габдулхаков А.Г.	35	Плюснина Т.Ю.	25
Генералова А.Н.	21	Проскуряков И.И.	26
Гусев Н.Б.	31	Разживин А.П.	27
Давидовский А.И.	12	Ризниченко Г.Ю.	25
Добрецов С.Л.	9	Рубин А.Б.	25
Донцов А.Е.	16, 18	Рязанцев С.В.	14
Еремин А.А.	37	Садикова Д.Г.	28
Ерохин Ю.Е.	10	Сажина Н.Н.	29
Есипова Н.Г.	12	Сакина Н.Л.	16, 18
Жалимов В.К.	38	Семенов А.Ю.	24
Жидкова Т.В.	11	Семёнов С.Ю.	8
Зайцев А.В.	22	Семьянов А.В.	33
Земченкова О.В.	13, 14	Сизова С.В.	21
Зубрицкая Г.П.	30	Склифас А.Н.	38
Ибрагимова В.Х.	17	Слобожанина Е.И.	30
Калинин В.Н.	22	Случанко Н.Н.	31
Камзолова С.Г.	23	Страховская М.Г.	15
Капцов В.В.	38	Судницына М.В.	31
Карапетян Н.В.	27	Суханова А.В.	21
Кленина И.Б.	26	Терехова И.В.	27
Козлов А.С.	19	Теселкин Ю.О.	29
Козловский В.С.	27	Тюлькова Н.А.	32
Компанец В.О.	27	Тюрикова О.В.	33
Коромыслова А.Д.	16, 18	Филатов И.В.	12
Коршунова Г.А.	34	Фрайкин Г.Я.	15
Котова Е.А.	22, 34	Фуфина Т.Ю.	35
Красиков Н.Н.	36, 37	Хайлова Л.С.	34
Красавина М.С.	39	Чекалин С.В.	27
Красновский А.А.	19	Штиль А.А.	22
Крутинин Г.Г.	23	Шубин В.В.	27
Крутинина Е.А.	23	Шувалов В.А.	35
Кукушкин Н.И.	38	Щепинова М.М.	34
Курашов В.Н.	24		
Лебедева А.В.	33		
Лукьяненко Л.М.	30		

**IV СЪЕЗД
БИОФИЗИКОВ РОССИИ**

Том V

МАТЕРИАЛЫ ДОКЛАДОВ

Техническое редактирование, вёрстка
Мысягин С.А.