

## БИОФИЗИКА

**Председатели:**

**проф. Твердислов Всеволод Александрович**

**проф. Лобышев Валентин Иванович**

**проф. Тихонов Александр Николаевич**



### МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИКИ КОНЦЕНТРАЦИЙ ГЛЮКОЗЫ И ИНСУЛИНА

Акифьев А.А., Кабак Е.В., Полина Г.Ю.

*Саровский физико-технический институт НИЯУ МИФИ, Саров, Россия*

*E-mail: IVDokukina@mephi.ru*

Глюкоза является главным источником энергии для клеток человека. Поэтому необходимо контролировать уровень ее содержания в крови. Для этого у организма существует регуляторная система глюкоза-инсулин, основным компонентом которой является пептидный гормон инсулин, и в которой кровь, насыщенная глюкозой, проходя через поджелудочную железу, стимулирует выброс инсулина. Если эта система работает правильно, то производится достаточное для поддержания нужного уровня глюкозы количество инсулина. Если же эта система разлажена, то может развиваться диабет и другие не менее опасные заболевания.

С целью понимания принципов взаимного влияния глюкозы и инсулина проводятся как экспериментальные исследования [1], так и теоретические [2]. Так, из экспериментов известно, что в динамике глюкозы и инсулина в организме человека присутствуют две заметные задержки — первая, связанная с электрическими действиями внутри  $\beta$ -клеток, так как инсулину нужно время для пересечения эндотелиального барьера, и вторая, связанная с влиянием инсулина на процессы высвобождения глюкозы из печени, этот эффект проявляется в течение нескольких минут.

В данной работе предлагается математическая модель (модифицированная по [2]) динамики глюкозы и инсулина с учетом описанных задержек. Исследование модели показало хорошее согласие с экспериментальными данными [1]. Кроме того, модель позволяет предсказать некоторые изменения в работе регуляторной системы инсулин-глюкоза.

Авторы благодарят своего научного руководителя Докукину И.В., к.ф.-м.н, Саровский физико-технический институт НИЯУ МИФИ, Саров, Россия.

#### **Литература**

1. Polonsky K.S., Given B.D., Van Cauter E. Twenty-four-hour profiles and pulsatile patterns of insulin secretion in normal and obese subjects. *J. Clin. Invest.* 1988. Vol. 81, p. 442–448.
2. Li J., Kuang Y., Mason C.C. Modeling the glucose-insulin regulatory system and ultradian insulin secretory oscillations with two explicit time delays. *J. Theor. Biol.* 2006. Vol. 242, p. 722–735.

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ФОСФОЛИПАЗЫ С  $\zeta$  В СПЕРМАТОЗОИДЕ  
И ЯЙЦЕКЛЕТКЕ *Mus Musculus*

Табачник А.К.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия.*

*E-mail: atabachnick@mail.ru*

Для многих клеток человеческого организма быстрое изменение их формы и состояния происходит при участии ионов кальция в цитозоле клетки как медиаторов сигнала. В большинстве типов клеток концентрация ионов кальция увеличивается за счет их втока через каналы мембраны, активируемые инозитол-3-фосфатом, который, в свою очередь, появляется в результате работы фермента фосфолипаза С. Одна из редких изоформ этого фермента — фосфолипаза С  $\zeta$  (ФЛС) — это основной кандидат на роль активатора осцилляций концентрации кальция в зиготе сразу после оплодотворения (Kashir et al, 2018). Она, как и прочие фосфолипазы С, несет функцию расщепления находящегося в мембране фосфатидилинозитол 4,5-бисфосфата на диацилглицерол и инозитол-3-фосфат (IP3) — вторичный мессенджер, который переходит в цитоплазму и способен вызывать выброс кальция из внутриклеточных кальциевых хранилищ. Для активации ей необходимо связаться с мембраной и четырьмя молекулами кальция. Её отличительные признаки — более высокое по сравнению с другими фосфолипазами сродство к кальцию и отсутствие РН-домена (Kouchi et al, 2005). Эксперименты показывают, что наличие PLC  $\zeta$  является необходимым и достаточным условием для возникновения кальциевых осцилляций в яйцеклетке (Kashir et al, 2018). При этом в сперматозоиде концентрации PLC  $\zeta$  гораздо выше, чем в яйцеклетке, но достоверного влияния на кальциевые осцилляции у PLC  $\zeta$  там нет.

Цель данной работы — разработать и исследовать математическую модель функционирования фосфолипазы С  $\zeta$  для сперматозоида и яйцеклетки и сделать вывод о достаточности возможной разницы состава мембран сперматозоида и яйцеклетки для объяснения различного уровня активности PLC  $\zeta$ .

Математическая модель представляет собой систему из 13 ОДУ, интегрируемых методом LSODA или систему из 13 ДУЧП, интегрируемых неявным методом конечных объемов. Параметры модели оценивались на основе данных по активности PLC  $\zeta$ , полученных в ходе экспериментов на искусственно созданных липосомах различного состава (Nomikos et al, 2015). Также использовались данные по сравнению активности различных фосфолипаз (Nomikos et al, 2005).

Математическое моделирование системы показало, что как в сперматозоиде, так и в яйцеклетке концентрация IP3, получаемого за счет активности PLC  $\zeta$ , существенно меньше 1 нМ. Данные концентрации существенно ниже необходимых для физиологического ответа и пренебрежимо малы по сравнению с фоновыми концентрациями IP3. Это означает, что в рамках данной модели PLC  $\zeta$  не может оказывать существенного эффекта на кальциевые симуляции без дополнительной активации. 5-ти-кратное повышение концентраций фосфоинозитидов в мембране также не оказало достаточного эффекта на активность PLC  $\zeta$ , хотя и привело к повышению доли активной формы.

Полученные результаты показывают, что при отсутствии дополнительных активаторов фосфолипаза С  $\zeta$  не способна к достаточно высокой для формирования физиологически значимых концентраций IP3 активности. Это значит, что объяснение разницы в функционировании PLC  $\zeta$  в цитоплазме сперматозоида и яйцеклетки при помощи разницы в фосфоинозитидного состава мембран как минимум, недостаточно, и для полного объяснения этого эффекта требуется наличие дополнительного активатора в яйцеклетке или ингибитора в сперматозоиде.

**Литература**

1. Kashir, J., Nomikos, M., & Lai, F. A. (2018). Phospholipase C zeta and calcium oscillations at fertilisation: The evidence, applications, and further questions. *Advances in Biological Regulation*, 67(September 2017), 148–162. <https://doi.org/10.1016/j.jbior.2017.10.012>
2. Kouchi, Z., Shikano, T., Nakamura, Y., Shirakawa, H., Fukami, K., & Miyazaki, S. (2005). The role of EF-hand domains and C2 domain in regulation of enzymatic activity of phospholipase C $\zeta$ . *Journal of Biological Chemistry*, 280(22), 21015–21021. <https://doi.org/10.1074/jbc.M412123200>
3. Nomikos, M., Blayney, L. M., Larman, M. G., Campbell, K., Rossbach, A., Saunders, C. M., ... Lai, F. A. (2005). Role of phospholipase C- $\zeta$  domains in Ca<sup>2+</sup>-dependent phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate hydrolysis and cytoplasmic Ca<sup>2+</sup> oscillations. *Journal of Biological Chemistry*, 280(35), 31011–31018. <https://doi.org/10.1074/jbc.M500629200>
4. Nomikos, M., Sanders, J. R., Parthimos, D., Buntwal, L., Calver, B. L., Stamatiadis, P., ... Lai, F. A. (2015). Essential role of the EF-hand domain in targeting sperm phospholipase C $\zeta$  to membrane phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP<sub>2</sub>). *Journal of Biological Chemistry*, 290(49), 29519–29530. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.658443>

**СТОХАСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ  
ПРЕПАРАТА ЭРИБУЛИН С МИКРОТРУБОЧКОЙ**

Анисимов М.Н.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия.**E-mail: amih199898@gmail.com*

Микротрубочки — цитоскелетные полимеры белка тубулина, большая роль которых обнаруживается в процессе митоза, внутриклеточном транспорте, подвижности клетки и поддержании её структуры. Ингибирование динамики микротрубочек останавливает деление клеток, в том числе раковых. Одним из новых и перспективных препаратов-ингибиторов тубулина является эрибулин. Известно, что он замедляет рост микротрубочки и подавляет гидролиз тубулин-связанной молекулы гуанозинтрифосфата. Эрибулин связывается с теми концами микротрубочек, которые принято называть плюс-концами, причем всего одной связанной молекулы эрибулина достаточно для получения сильного эффекта на динамику микротрубочки [1]. Молекулярные принципы влияния на динамику микротрубочек такой низкой концентрацией эрибулина, как и низкими концентрациями других ингибиторов, непонятны.

Мы поставили цель теоретически описать возможный механизм воздействия малых концентраций эрибулина на сборку микротрубочек. Для этого мы разработали кинетическую модель динамики микротрубочки в присутствии эрибулина. В нашей модели могли происходить пять видов событий: присоединение и отсоединение димеров тубулина, переключение свойств димеров в результате гидролиза гуанозинтрифосфата в составе тубулина, выпрямление и искривление димеров тубулина. Каждое такое событие характеризовалось определенной константой, все события удовлетворяли предложенной нами схеме, а их последовательность во времени описывалась с помощью метода Монте-Карло. Эрибулин моделировался как модификатор свойств тубулина в месте его связывания. Мы сопоставили результаты моделирования в присутствии и отсутствии эрибулина с опубликованными данными о динамике микротрубочек [1, 3] с целью провести калибровку параметров модели. Нам удалось сформулировать ограничения на константы присоединения тубулина к концу микротрубочки и значения энергий взаимодействия димеров тубулина в составе микротрубочки. Используя откалиброванную модель, мы описали существующие эксперименты [1]. По сравнению с другой моделью [2], которая не учитывает выпрямление и искривление димеров тубулина и качественно так же описывает экспериментальные данные [1], наша модель делает это лучше коли-

чественно. Только она предсказывает экспериментально наблюдаемое среднее время нахождения одной молекулы эрибулина на микротрубочке.

Результаты моделирования позволили теоретически обосновать возможность влияния всего одной молекулы ингибитора на динамику всей микротрубочки и аргументировать наличие изогнутой конформации димеров тубулина в составе микротрубочки. Работа была поддержана грантом РНФ, проект № 17-74-20152.

### Литература

1. Doodhi et al. // *Current Biology*. 2016. V. 26 (13). P. 1713–1721.
2. VanBuren et al. // *PNAS*. 2002. V. 99 (9). P. 6035–6040.
3. Walker et al. // *The Journal of Cell Biology*. 1988. V. 107 (4). P. 1437–1448.

## ПРЕДСКАЗАНИЕ РАСПОЛОЖЕНИЯ НУКЛЕОСОМ МЕТОДАМИ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ

Афентьева Д. В.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия.  
E-mail: dafentyeva@yandex.ru*

Нуклеосомы — это основные структурные единицы упаковки ДНК у эукариот. Они представляют собой октамер гистонов, на который намотан отрезок ДНК длиной в 147 нуклеотидов, и играют важную роль в регуляции экспрессии генов в клетке [1, 2, 3, 4]. Расположение нуклеосом определяется комбинацией факторов: последовательностью ДНК, АТФ-зависимыми ремоделерами, транскрипционными факторами, РНК-полимеразами [1, 4]. В данной работе исследуется влияние физико-химических свойств (свободная энергия, энтропия, конфигурационные параметры ДНК) последовательности ДНК на положение нуклеосом у *S. cerevisiae*. В работе реализованы несколько методов машинного обучения, дающих различную точность, и показано, какие факторы являются определяющими для расположения нуклеосом на ДНК.

### Литература

1. Razvan V. Chereji, Srinivas Ramachandran, Terri D. Bryson, Steven Henikoff Precise genome-wide mapping of single nucleosomes and linkers in vivo // *Genome Biology*. 2018. DOI 10.1186/s13059-018-1398-0.
2. Mattia Di Gangi, Giosu'e Lo Bosco and Riccardo Rizzo Deep learning architectures for prediction of nucleosome positioning from sequences data // *BMC Bioinformatics*, 19(Suppl 14):418. 2018.
3. Luis Quintales, Enrique Vazquez, Francisco Antequera Comparative analysis of methods for denome-wide nucleosome cartography // *Briefings in Bioinformatics*, Volume 16, Issue 4. 2015, p.576–587.
4. J. Widom Role of DNA sequence in nucleosome stability and dynamics // *Quartely Reviews of Biophysics*, 34, 3, p. 269–32. 2001.

## СВЯЗЬ ИЕРАРХИЧЕСКИХ СТРУКТУР БЕЛКОВ С ИХ ФУНКЦИЯМИ

Багрова О.Е.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия.  
o-bagrova@mail.ru*

Представляемая работа является продолжением концепции о закономерной смене знака хиральности в биологических структурах, развиваемой на кафедре биофизики

физического факультета МГУ [1]. Подобное исследование проводилось в 1978 году [2]. В отличие от указанного исследования настоящая работа отличается более полным анализом белков. В данной работе впервые проведён широкий анализ зависимости функции белков от их «хиральной» структуры.

Выявление закономерностей и соответствий между строением белка и его функциями позволит создать новые бионические материалы. Так, например, по аналогии с плодами репейника была изобретена текстильная застёжка. Предполагается, что для получения необходимых свойств создаваемых материалов, их структура должна быть подобна структуре белка-прототипа. Ещё одной перспективой представленного исследования является возможность определения функций белков посредством анализа только их структур.

Важным аспектом данной работы можно назвать учёт хиральности исследуемых структур. Известно, что в белках всех организмов чаще встречаются спирали D-типа. Также существует определённая закономерность при переходе с одного уровня структурной организации белков на более высокий, выражающаяся в смене знака хиральности структуры: L-D-L-D. Так, в первичной полипептидной цепи встречаются аминокислоты исключительно L-типа. На более высоком уровне организации белков, на уровне спиралей, наблюдаются структуры D-типа, ещё выше — третичные структуры L-типа и затем четвертичные — D-типа. Для генетического материала наоборот: D-дезоксирибоза, затем L-нуклеотиды, двойная спираль ДНК является D-спиралью, и наконец суперспираль L-типа. Хиральность структур играет также важную роль в фолдинге белка (сворачивание полипептидной цепи). Данное исследование может повлиять на развитие теории фолдинга в целом.

В работе проведён анализ распределения вторичных структур по полипептидной цепи белков нескольких функциональных классов с помощью сведений из электронной базы данных Protein Data Bank (PDB) [3]. На основе полученных результатов выявлено преобладание тех или иных типов структур в зависимости от их расположения на первичной цепи белка. Анализ и сравнение нескольких цепей одного белка позволили получить более достоверный результат для распределения вторичных структур по полипептидной цепи класса и отдельного белка.

Рассмотрены вирусные белки, а также шапероны, изомеразы, оксидоредуктазы. Суммарно проанализировано свыше 100 белковых структур. Исследованы распределения таких вторичных структур, как спирали и  $\beta$ -листы. Для спиралей учитывались следующие типы:  $\alpha$ ,  $\omega$ ,  $\pi$ ,  $\gamma$ ,  $3_{10}$ ,  $2_7$ . Также рассматривались полипролиновые спирали. Для  $\beta$ -листов учитывались направления  $\beta$ -цепей относительно друг друга: параллельные или антипараллельные. Учёт хиральности вторичных структур позволил выявить преобладание правых энантиомеров в исследуемых белках. Так, в структурах вирусных белков вовсе не были обнаружены левые спирали. Полученный результат может играть важную роль при разработке противовирусных лекарств.

### Литература

1. Твердислов В.А., Малышко Е.В., Ильченко С.А., Жулябина О.А., Яковенко Л.В. Периодическая система хиральных структур в молекулярной биологии // Биофизика, 2017, том 62, вып. 3, с. 421–434.
2. Adzhubei A.A., Eisenmenger F., Tumanyan V.G., Zinke M., Brodzinski S. Esipova N.G. // Journal of Biomolecular Structure & Dynamics, 1987, Volume 5, Issue Number 3.
3. RCSB PDB: <http://www.rcsb.org>

МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ДВИЖЕНИЯ БЕЛКОВ  
ПО МИКРОТРУБОЧКЕ  
В РЕЖИМЕ УЛЬТРАБЫСТРОЙ СИЛОВОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Балакшина В. П., Гончар И. В.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия.*

*E-mail: nikabaly@yandex.ru*

Изучение механизмов деления клеток и механики движения хромосом в митозе актуально, поскольку раковые трансформации клеток всегда ведут к нарушению контроля деления клеток. В течение митоза образуется веретено деления: микротрубочки присоединяются к особым участкам на хромосоме, кинетохорам. Кинетохорные белки, обеспечивающие взаимодействие с микротрубочками, являются ключевым элементом этого взаимодействия. Для понимания природы сил, обеспечивающих движение хромосом и динамики веретена деления крайне важно исследовать динамику этих процессов под действием сил, действующих в этой системе. Особенным элементом в этих взаимодействиях являются микротрубочки. Они состоят из периодически расположенных гетеродимеров белка тубулина [1], что обуславливает периодический характер взаимодействия белков с микротрубочками.

Наиболее информативным и современным является недавно разработанный метод ультрабыстрой силовой спектроскопии одиночных молекул. В этом методе микротрубочка крепится между двумя шариками, которые захватываются лазерными ловушками. Под микротрубочкой на подложке фиксируется изучаемая молекула. К шарикам прикладывается постоянная сила, и микротрубочка двигается над закрепленной молекулой. При взаимодействии молекулы с микротрубочкой изменяется характер движения системы и по изменению скорости движения шариков можно характеризовать силу их взаимодействия.

В нашей лаборатории Иваном Гончаром и Максимом Годзи была построена модель, описывающая динамику такого эксперимента. В силу периодической структуры микротрубочек в модели рассматривается движение молекулы в периодическом потенциале под действием внешней силы. Эта модель правильно описывает движение микротрубочки и шариков в отсутствие взаимодействий с молекулой при всех исследованных значениях силы. Также данные указывают на S-образную зависимость уменьшения средней скорости микротрубочки и шариков в зависимости от увеличения глубины ямы, причем максимальная скорость достигается для наименьшей глубины ямы. Для средней скорости молекулы была получена кривая, содержащая единственный максимум: до определенной глубины ямы, отвечающей за максимум, скорость возрастает, после убывает.

В целях обоснования точности результатов, получаемых с экспериментальной установки, необходимо понимать соотношения сигнала и шума. Эта задача была решена с помощью упрощенной модели динамики эксперимента. Данная модель включает в себя такие объекты экспериментальной системы, как ловушки, шарики, к которым прикреплена микротрубочка, сама микротрубочка и молекула. Все эти объекты определены, как материальные точки. В начальный момент все составляющие системы находятся в одной точке с координатой ноль. При возникновении сил действующих со стороны ловушек на шарики — система растягивается, и каждый объект начинает характеризоваться своей координатой. Взаимодействие между шариками и ловушками, а также шариками и микротрубочкой имитируется с помощью гукских пружин. Жесткость пружин определяет силу взаимодействия. Сила характеризующая взаимодействие микротрубочки и молекулы описывается линейной функцией, зависящей от разности скоростей микротрубочки и молекулы.

С помощью данной модели, проведен теоретический анализ шумов в ультрабыстрой силовой спектроскопии при различных режимах движения ловушек: к двум шари-

кам приложены независимо контролируемые постоянные силы; к правому шарикю приложена определенная сила, а сила, действующая на второй шарик, определяется из условия постоянства расстояния между ловушками. Получены следующие результаты:

1. шум не зависит от режима движения ловушек;
2. в ловушках шумы шариков меньше, чем без ловушек;
3. в ловушках смещение микротрубочки, не по прямой основного движения, больше, чем без ловушек;
4. амплитуда колебания шариков слабо зависит от силы взаимодействия молекулы с микротрубочкой для изученных коэффициентов силы их взаимодействия;
5. с увеличением жёсткости ловушек шумы в системе уменьшаются.

Следующим этапом работы является рассмотрение вопросов, связанных со временем жизни кинетических белков на микротрубочке.

### Литература

1. Альбертс Б. и др. Молекулярная биология клетки. — М.–Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», Институт компьютерных исследований, 2012. — 2000 с.

## МЕХАНИЗМЫ КАЛЬЦИЕВОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ В МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ

Болдова А.Е.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия.*

*E-mail: anusha23@yandex.ru*

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) — мультипотентные стволовые клетки, обладающие способностью к пролиферации и самовосстановлению. Значимым фактором, оказывающим влияние на дифференцировку клеток, является изменение концентрации ионов свободного кальция в цитозоле. Специфическое повышение концентрации кальция может быть индуцировано норадреналином, серотонином и другими гормонами. Как было показано в работе П.Д.Котовой и соавторов, кальциевый ответ мезенхимальных стромальных клеток на норадреналин (NA) имеет тип «все-или-ничего»: в ответ на концентрации NA более 125 нМ наблюдается одиночный пик концентрации кальция, в то время как для более низких концентраций NA ответа не наблюдается [1].

Целью настоящей работы является теоретическое определение последовательности химических реакций, определяющих подъем концентрации кальция в мезенхимальных стромальных клетках при стимуляции норадреналином и их описание с помощью системы дифференциальных уравнений (математической модели).

В качестве метода исследования была построена математическая модель гомогенной системы, описывающая изменение концентрации ионов свободного кальция в цитозоле. Модель основана на работах предшественников [2, 3]. Интегрирование системы уравнений проводилось методом LSODA.

Построенная модель согласуется с известными экспериментальными данными, описывающими кальциевый ответ МСК под воздействием норадреналина [1]. При рассмотрении выхода кальция из внутренних депо под действием генерируемого ферментом фосфолипаза С (ФЛС) инозитол-3-фосфатом (ИФ3) наблюдается переход к новому устойчивому состоянию с постоянным значением содержания концентрации ионов кальция в цитозоле. Полученный результат ожидаем, поскольку в начальной модели отсутствуют механизмы кальций-зависимой активации и дезактивации рецепторов к ИФ3. При добавлении положительной обратной связи — усилении активности ФЛС ионами кальция — были получены следующие результаты: для малых значений ФЛС поведение системы на качественном уровне не отличается от модели без обратной свя-

зи; повышение данного параметра приводит к переходу в новое состояние — режим осцилляций концентрации кальция в цитозоле; для больших значений коэффициента активности характерен режим быстро затухающих колебаний. Присоединение отрицательной обратной связи дает возможность реализовать как режим устойчивых колебаний, так и монотонный переход системы в состояние с постоянной концентрацией кальция в цитозоле. Однако, ни одна из моделей взаимодействия не дает возможность воспроизвести ответ по типу «ВСЕ-ИЛИ-НИЧЕГО» в замкнутой системе. Путем добавления Са-АТФазы плазматической мембраны клетки можно получить отток ионов из цитозоля и тем самым организовать внутриклеточный кальциевый ответ по заданному принципу.

Таким образом, в результате работы было показано, что специфический кальциевый ответ клеток, организованный по принципу “ВСЕ-ИЛИ-НИЧЕГО” [1] может быть реализован только при наличии отрицательной обратной связи и оттока ионов свободного кальция из цитозоля во внешнюю среду.

### Литература

1. Kotova P. D. // Calcium-Induced Calcium Release Mediates All-or-Nothing Responses of Mesenchymal Stromal Cells to Noradrenaline// P. D. Kotova, P. A. Turin-Kuzmin; 2014; MEMBRANE AND CELL BIOLOGY: Vol. 8 No. 1, pp. 82–88.
2. Politi A. //Models of IP3 and Ca<sup>2+</sup> Oscillations: Frequency Encoding and Identification of Underlying Feedbacks // A. Politi, L. D. Gaspers et al.; 2006; Biophysical Journal: Vol. 90, pp. 3120–3133.
3. Sneyd J. // A dynamic model of the type-2 inositol trisphosphate receptor// J. Sneyd, J.-F. Dufour; 2001; PNAS : Vol.99, n0. 4, pp. 2398–2403.

## ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПЛЕНОК ZnO, ДОПИРОВАННЫХ La<sup>3+</sup>

Борулева Е.А.<sup>1</sup>, Чудинова Г.К.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>НИЯУ МИФИ, <sup>2</sup>ИОФ РАН, Москва, Россия  
katrinboruleva@gmail.com

В последнее время большое внимание уделяется исследованиям материалов на основе оксида цинка (ZnO) [1]. Проводятся работы по созданию тонких пленок композитных материалов на основе ZnO, которые активно используются для исследований физико-химических свойств биомакромолекул, а так же для применения этих материалов в области сенсорики [2]. Для модификации свойств композита используются различные допанты.

В настоящей работе для получения модифицированных La<sup>3+</sup> пленок ZnO использовался золь-гель метод [2]. Исследованы спектры пропускания пленок ZnO, допированных La<sup>3+</sup> разных концентраций. Анализ спектров пропускания, приведенный на рисунке 1(А), показал незначительное изменение сдвига запрещенной зоны ZnO, легированных La<sup>3+</sup> в область больших энергий (~ 3,75 эВ). Так как, ширина запрещенной зоны вюрцита ZnO составляет ~ 3,37 эВ. Для исследования взаимодействия с ДНК (calf thymus, Sigma-Aldrich Co) были использованы пленки с различным содержанием допанта La<sup>3+</sup>. Спектры с ДНК для разных концентраций La<sup>3+</sup> имели практически одинаковый вид, поэтому ниже показан график только для 1% La<sup>3+</sup>.

Адсорбция ДНК на поверхность композитных пленок ZnO–La<sup>3+</sup> практически не влияет на оптические свойства, в частности на коэффициент пропускания. Данные спектры приведены на рисунке 1(Б). Поэтому, ДНК можно использовать в качестве базовой матрицы для биоанализа.



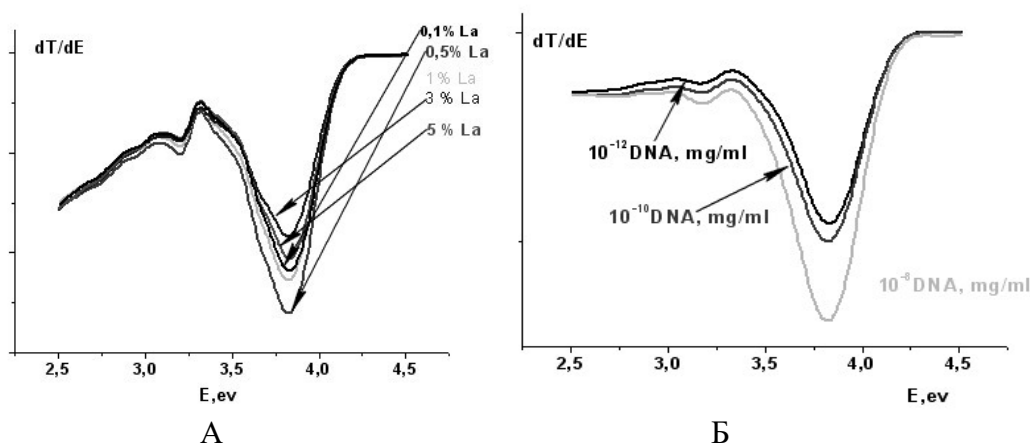


Рис. 1. (А) — графики зависимости коэффициента пропускания от энергии для легированной различной концентрацией La пленки оксида цинка; (Б) — графики зависимости коэффициента пропускания от энергии для легированной La пленки оксида цинка с добавлением ДНК разной концентрации.

### Литература

1. Н. Brown, "Zinc Oxide Rediscovered, The New Jersey Zinc Company, New York, 1957; and Zinc Oxide Properties and Applications," ed: Pergamon, New York, 1976.
2. A. Moezzi, A. M. McDonagh, and M. B. Cortie, "Zinc oxide particles: Synthesis, properties and applications," Chemical engineering journal, vol. 185, pp. 1–22, 2012.

## СОПОСТАВЛЕНИЕ СТРУКТУРЫ БЕЛКОВ ПРИ ПОМОЩИ РАССТОЯНИЯ ФРЕШЕ

Бурмистров П.А.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия.*

*E-mail: pavelburmistrov@protonmail.com*

Сравнение и упрощение ломаных линий является задачей целого ряда областей, включающих компьютерное зрение, биоинформатику, вычислительную геометрию и параметрическое приближение кривых. Проблема сходства ломаных является ключевым вопросом при исследованиях структурно-функциональных характеристик белков. Исходя из того, что структура белка определяет его функции, анализ структуры позволяет получить информацию о структурно-функциональных характеристиках белков.

Белки — линейные полимеры, поэтому их структурное сходство можно оценивать по сходству соответствующих ломаных кривых. Одним из подходов к сопоставлению кривых является мера Хаусдорфа, однако она характеризует различие между кривыми и применима не во всех случаях. Известной мерой сходства между кривыми является расстояние Фреше, которое задаётся следующим образом. Пусть  $X$  будет Евклидовым пространством  $R^3$ ,  $d(a,b)$  задаёт евклидово расстояние между двумя точками  $a, b$  в  $X$ . Тогда (непрерывным) расстоянием Фреше между двумя параметрическими кривыми  $f:[0,1] \rightarrow X$  и  $g:[0,1] \rightarrow X$  будет

$$\delta_{\mathcal{F}}(f, g) = \inf_{\alpha, \beta} \max_{s \in [0,1]} d(f(\alpha(s)), g(\beta(s))),$$

Открытым вопросом является алгоритмическая и вычислительная сложность подходов к сравнению структуры белков. Alt и Godau (1992) первыми применили расстояние Фреше для расчета сходства между ломаными линиями. Предложено несколько алгоритмов вычисления расстояния Фреше между кривыми, в том числе и ломаными. На данный момент достигнуто полиномиальное время вычислений и открыт вопрос об NP-

полноте существующих алгоритмов. Наша работа, основанная на данной идее, направлена на оптимизацию длительности и сложности вычислений.

### Литература

1. Wylie T., Zhu B. Protein Chain Pair Simplification Under the Discrete Fréchet Distance // IEEE/ACM transactions on computational biology and bioinformatics / IEEE, ACM 2013 10(6) Pp.1372–1383.
2. Zhu B. Protein Local Structure Alignment Under the Discrete Fréchet Distance // J. of Computational Biology 2007 V. 14 (10), Pp. 1343–1351.
3. Jiang M., Xu Y., Zhu B. Protein structure-structure alignment with discrete Fréchet distance // J. of Bioinformatics and Computational Biology 2008 (6), Pp. 51–64.
4. S.Needlemanand, C.Wunsch. A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins. // J. of Molecular Biology, 1970 (48) Pp/ 443–453.

## АКТИВАЦИЯ СЛУХОВОЙ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА РЕЧЕВЫМИ И НЕРЕЧЕВЫМИ СТИМУЛАМИ

Варламов С.А.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет,  
Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва,  
Центр патологии речи и нейрореабилитации, клиническая база ФГБУ  
«ФМИЦПнИ им. В.П. Сербского» Минздрава России, Москва Россия  
E-mail: sv-kanino@mail.ru*

В настоящее время до конца не известно, каким образом звуковая информация обрабатывается в мозге человека. Поскольку наиболее важными для людей являются речевые звуки, возникает большой интерес к организации их обработки. По этому вопросу существуют несколько гипотез [1], которые можно свести к следующему: или для речи предусмотрены специальные нервные механизмы, или же она обрабатывается общими механизмами, как и любые сложные звуки. Целью данной работы было обнаружение специфической активации слуховой коры на речевые и неречевые стимулы. В качестве стимула был выбран звук [р], поскольку он имеет неречевые аналоги (рык животных, шум мотора). В эксперименте приняли участие 17 испытуемых, которые прослушивали короткие фрагменты [р]-подобных звуков различной природы (произнесенные дикторами женского и мужского пола, а так же звуки животных и моторов) во время записи фМРТ. В результате обработки данных были получены усредненные по группе карты активации для речевых и неречевых стимулов. При сопоставлении активированных зон оказалось, что они перекрываются лишь частично. В частности, кластеры нейронов, активированные только лишь речью, были обнаружены в правых 38, 40, 22 и 41, а также левых 13, 22 зонах Бродмана, в то время как кластеры чисто неречевой активации — в правых 1, 41, а также в левой 40 зоне. Область перекрывания включает кластеры, расположенные в правых 22, 41, и левых 40 и 41 зонах Бродмана. Помимо этого, были найдены различия в восприятии пола диктора: имеются одни кластеры нейронов, реагирующие на женский голос, и другие, отвечающие на мужской, причем перекрывание в данном случае оказалось незначительным.

Полученные данные свидетельствуют о наличии в слуховой коре зон, которые отвечают специфическим образом на речевые и неречевые стимулы. Это может означать наличие физиологического механизма первичной обработки звуков и последующего их разделения по видам для дальнейшей обработки в специализированных зонах мозга. Принципиально, это согласуется с исследованием [2], где тоже были обнаружены как общая, так и чисто речевая и чисто неречевая зоны. Некоторое увеличение объема ак-

тивации нейронов при прослушивании женского голоса относительно мужского должно способствовать лучшему восприятию женского голоса. Значительное пространственное разделение обработки голоса по половому признаку, обнаруженное в данной работе, проявляет глубину и фундаментальность данной характеристики для человека. Увеличение активации при прослушивании звуков речевой природы (а также женского голоса) может объясняться с одной стороны эволюционной значимостью стимулов такого рода, и с другой стороны сложностью решаемой задачи. Существование специализированных зон активации на неречевые звуки может говорить о равном иерархическом уровне речевой и неречевой информации с точки зрения ее обработки, в противовес концепции последовательной обработки от простого к сложному.

### Литература

1. Diehl R.L., Lotto A.J., Holt L.L. Speech perception // Annual Review of Psychology. 2004. № 55. P. 149–179.
2. Tremblay P., Baroni M., Hasson U. Processing of speech and non-speech sounds in the supratemporal plane: Auditory input preference does not predict sensitivity to statistical structure // NeuroImage. 2013. (66). P. 318–332.

## ИССЛЕДОВАНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ОБРАТИМОЙ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ МЕТОДАМИ НЕЛИНЕЙНОЙ ДИНАМИКИ

Васильев Г.А., Филькова А.А.

МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия.  
vasilev.ga18@physics.msu.ru

Еще в 60х годах XX века открыто явление обратимой агрегации тромбоцитов. Этот феномен наблюдается при активации тромбоцитов крови *in vitro* в ответ на слабые агонисты (например, низкие концентрации АДФ) [1]. До сих пор его механизмы полностью не изучены. Недавно была предложена математическая модель, описывающая обратимую агрегацию тромбоцитов с помощью двух дифференциальных уравнений [2]. В этой модели рассматривается обратимая агрегация в ответ на АДФ. Она исходит из представления о том, что суспензия тромбоцитов в крови состоит из одиночных тромбоцитов и агрегатов, причём в результате различных реакций соответствующие им концентрации меняются со временем. 5 параметров модели определяются методами автоматической оценки на основе экспериментальных данных.

Целью настоящей работы является исследование математической модели обратимой агрегации тромбоцитов и определение физического смысла параметров модели методами нелинейной динамики.

Численное интегрирование модели проводилось с помощью набора методов PyDSTool языка программирования Python 2.7.

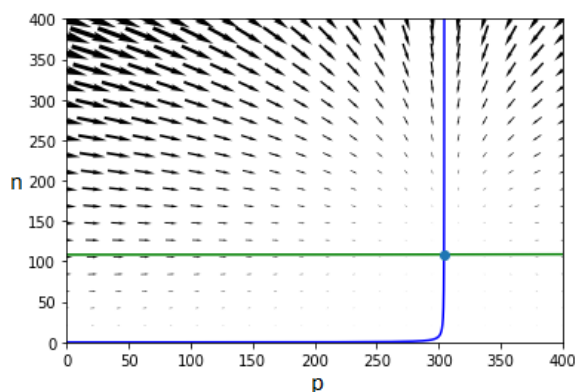


Рис. 1. Фазовая плоскость с особой точкой типа стабильный узел.

Проведённый качественный анализ модели показывает, что у данной системы при наборе значений параметров, описывающих экспериментальные данные, есть одна нетривиальная особая точка типа стабильный узел (рис. 1). Для различных наборов параметров построены фазовые плоскости с изоклинами, определены особые точки и построены графики зависимости числа одиночных тромбоцитов и агрегатов от времени. Были определены значения параметров модели, при которых наблюдаются бифуркации перехода из состояния устойчивый узел в состояние устойчивый фокус.

В результате работы исследована математическая модель обратимой агрегации тромбоцитов, предложен физический смысл параметров и показана возможность уменьшения числа независимых параметров модели.

### Литература

1. Born G.V.R. Aggregation of Blood Platelets by Adenosine Diphosphate and its Reversal. Nature. Nature Publishing Group; 1962 Jun 9;194:927
2. Aleksandra A. Filkova, Alexey A. Martyanov, Andrei D. K. Garzon, Mikhail A. Pantelev and Anastasia N. Sveshnikova Quantitative dynamics of reversible platelet aggregation: mathematical modelling and experiments (на рассмотрении).

## ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМЕТИЛСИЛСЕСКВИОКСАНОВЫХ ДЕНДРИМЕРОВ 5–6 ГЕНЕРАЦИИ С ПОМОЩЬЮ МАЛОУГЛОВОГО РЕНТГЕНОВСКОГО РАССЕЯНИЯ

Великанова Д.С

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия.  
darya-velikanova@mail.ru*

Дендримеры — это трехмерные, четко определенные гиперразветвленные и монодисперсные макромолекулы обладающие регулярной структурой, в пространственной архитектуре которых выделяют три основных компонента: ядро, ветви и концевые группы. Данный тип макромолекул относится к особому классу полимеров, получаемых в результате трудоемкого поэтапного синтеза. Физические свойства данных макромолекул имеют важное значение для их применения в промышленности. Дендримеры одновременно совмещают в себе свойства частиц, обладающих хорошей растворимостью и вязкостью в растворах, и макромолекул. Эти свойства представляют интерес в таких прикладных областях как: биология, медицина, фармакология и используются в процессе катализа (в качестве сенсора, матрицы и мицеллы). Дендримеры можно использовать в качестве системы доставки лекарств[2].

Для эффективного применения дендримеров необходимо знать их внутреннюю структуру. Для решения данной задачи нужно установить взаимосвязь молекулярной архитектуры дендримера с его фазовым состоянием и особенностями самосборки в объемной фазе. При этом необходимо исключить изменения объекта во время изучения. Среди дифракционных методов одним из лидирующих является малоугловое рентгеновское рассеяние (МУРР). Структурное разрешение МУРР находится в области от 1 до 100 нм.

Метод даёт возможность получать пространственные характеристики различных дисперсных образцов в их естественной среде и анализировать их строение без постоянного вмешательства в ходе процесса, что помогает исключить нежелательные структурные изменения.

На рис.1. представлена схема эксперимента. В качестве источника излучения использовался синхротронный источник Petra III, DESY, Гамбург, станция P12 BioSAXS [1].

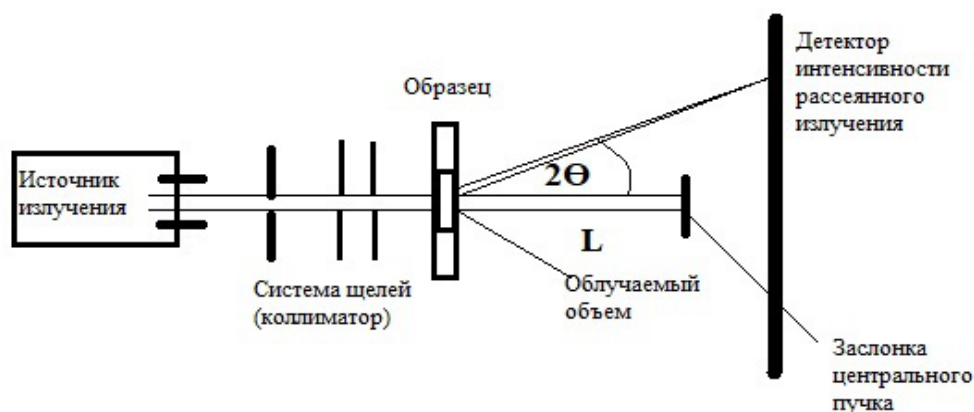


Рис. 1.

В рамках работы были обработаны первичные кривые дендримеров 5 и 6 генерации, полученные с детектора путем радиального усреднения. Далее в программе PrimusQt были найдены основные параметры для каждой генерации: исключенный объем, радиус инерции и максимальный размер частицы, а также функция распределения по расстояниям[1]. Построены графики зависимости основных параметров от концентрации дендримеров в растворе. По данным малоуглового рассеяния были построены *ab initio* модели низкого разрешения, путём многократного восстановления и последующего усреднения.

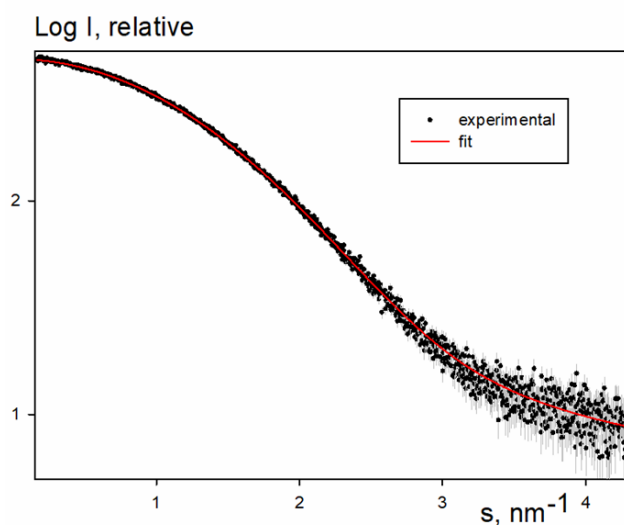


Рис. 2. Логарифмическая зависимость интенсивности рассеяния от вектора обратного рассеяния для G6

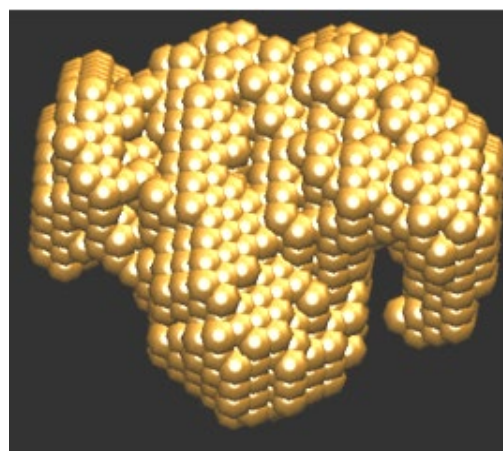


Рис. 3. Типичная восстановленная форма для G6.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования в рамках выполнения работ по Государственному заданию ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН (соглашение № 007-ГЗ/Ч3363/26)

### Литература

1. Blanchet, C.E., Spilotros, A., Schwemmer, F., Graewert, M.A., Kikhney, A.G., Jeffries, C.M., Franke, D., Mark, D., Zengerle, R., Cipriani, F., Fiedler, S., Roessle, M. and Svergun, D.I (2015).
2. Versatile sample environments and automation for biological solution X-ray scattering experiments at the P12 beamline (PETRA III, DESY) J. Appl. Cryst. 48(2), 431–443.

3. Книга *Dendrimers: A Themed Issue in Honor of Professor Donald A. Tomalia on the Occasion of His 80th Birthday*. (2018).

## СТОХАСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МИКРОТРУБОЧКИ И ПАКЛИТАКСЕЛА

Вовченко М.А.

*ФГАОУВО «МФТИ (НИУ), Москва, Россия*

*maxvov@phystech.edu*

Микротрубочки — внутриклеточные структуры, представляющие собой полые цилиндры из белка тубулина. Их особенностью является колебательный характер полимеризации: длина микротрубочки может стохастически как увеличиваться, так и уменьшаться при одних и тех же внешних условиях. Благодаря этому микротрубочки могут создавать силы для перемещения объектов внутри клетки. Динамические свойства микротрубочек изучаются с конца XX века, однако всё ещё плохо исследованы [1].

Микротрубочки играют ключевую роль в процессе клеточного деления. Благодаря им хромосомы распределяются сперва к экватору клетки, а затем — к клеточным полюсам, образуя генетический материал для дочерних клеток. Воздействуя на динамику микротрубочек, можно регулировать процесс деления клетки — что является важным этапом терапии онкологических заболеваний. Так, известно, что вещество паклитаксел способно стабилизировать микротрубочки, подавляя их динамику в раковых клетках и тем самым останавливая их деление [2-3]. На основе этого вещества был разработан препарат таксол, который успешно применяется в онкотерапии.

Этот экспериментальный факт требует обоснования через моделирование динамики микротрубочки. В 2002 году Винсент ВанБюрен предложил модель микротрубочки с двумя нуклеотидными состояниями тубулина: ГТФ и ГДФ [4]. Свободная димерная молекула тубулина, будучи в ГТФ-состоянии, может присоединиться к микротрубочке, затем гидролизироваться, перейдя в ГДФ-состояние, и отсоединиться от микротрубочки.

Была предложена модель микротрубочки с четырьмя состояниями: добавлены конформации тубулина «прямая» и «изогнутая», которые также могут находиться в ГТФ- и ГДФ-состояниях. Модель позволяет изменять различные параметры микротрубочки и наблюдать за эффектом этого изменения. Для моделирования подавления динамики микротрубочек в эту модель была введена молекула паклитаксела. Изменяя её концентрацию, стало возможно влиять на скорость полимеризации микротрубочки и описывать наблюдаемый эффект, сверяя с экспериментальными данными.

### Литература

1. Mitchison T., Kirschner M. Dynamic instability of microtubule growth // *Nature*. 1984. V. 312. P. 237–242.
2. Castle BT, McCubbin S, Prahl LS, Bernens JN, Sept D, Odde DJ. Mechanisms of kinetic stabilization by the drugs paclitaxel and vinblastine. *Mol Biol Cell*. 2017; 28(9):1238–1257.
3. Kellogg EH, Hejab NMA, Howes S, et al. Insights into the Distinct Mechanisms of Action of Taxane and Non-Taxane Microtubule Stabilizers from Cryo-EM Structures. *J Mol Biol*. 2017; 429(5):633–646.
4. Van Buren, V & Odde, D J & Cassimeris, L. Estimates of lateral and longitudinal bond energies within the microtubule lattice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002. 99. 6035–40. 10.1073/pnas.092504999.

ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК  
БИОМОЛЕКУЛ МЁДА И СОДЕРЖАЩИХСЯ В НЕМ ПОЛИСАХАРИДОВ

Гаврилов СА

*Астраханский государственный университет, Астрахань, Россия**E-mail: gawrilow1995@gmail.com*

В связи с проблемой наполненностью рынка мёда его фальсификатами возникает, необходимость в создании устройств, способных проводить экспресс-анализ мёда, заключающийся в определении концентрации входящих в его состав полисахаридов.

Для решения поставленной задачи было предложено использовать спектральный метод в сочетании с компьютерной обработкой экспериментальных данных.

В нашей работе был применен Фурье ИК-спектрометр Frontier, на котором были сняты ИК-спектры поглощения образцов мёда с увеличивающимся процентным содержанием сахарозы рис. 1.

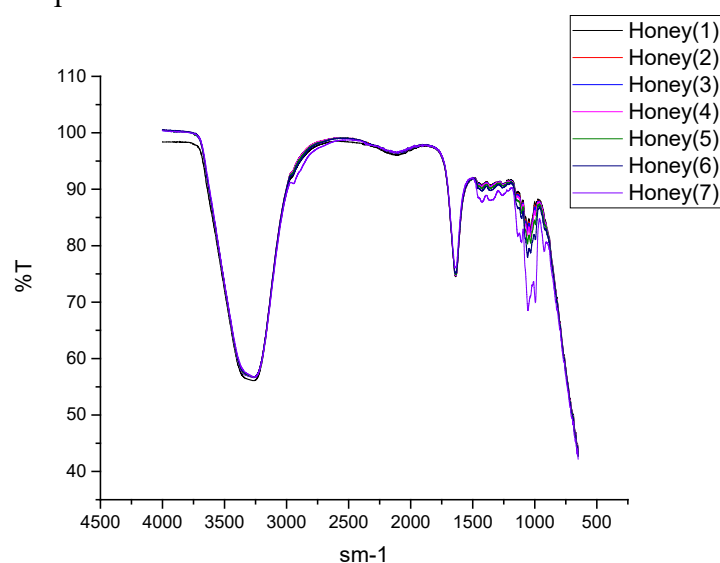


Рис. 1. Спектры образцов мёда.

В результате проведенного эксперимента было замечено, что на ИК-полосе  $997\text{ см}^{-1}$  с увеличением количества сахарозы интенсивность начинает снижаться рис. 2.

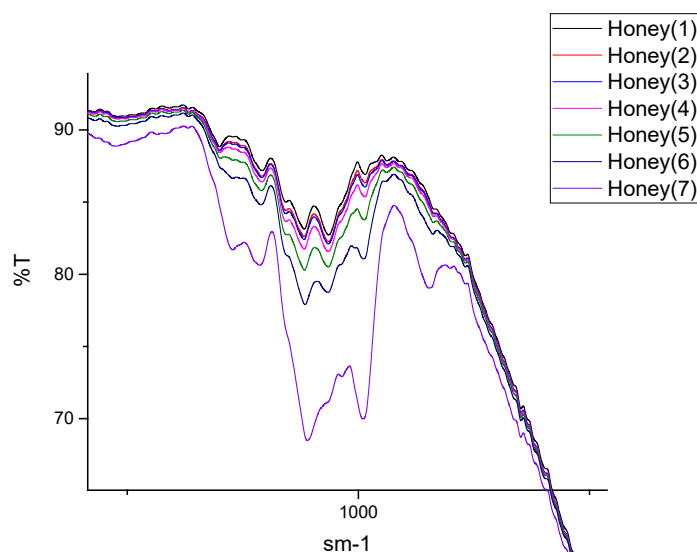


Рис.2. Спектры меда при различных концентрациях.

В дальнейшем планируется создать программное обеспечение рассчитывающее процентное содержание полисахаридов в меде.

### Литература

1. Николаева. Ю.Н. Мёд, прополис, перга и другие продукты пчеловодства от всех болезней [Текст] / Ю.Н. Николаева, -М.: Рипол Классик, 2011.-192 с.
2. <https://znaytovar.ru/s/Ximicheskij-sostav-i-pishhevaya-ce4.html>
3. <http://www.apiworld.ru/>

## ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕХАНИЗМА СБОРКИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КОМПЛЕКСА ПРОТРОМБИНАЗЫ НА ПОВЕРХНОСТИ ФОСФОЛИПИДНЫХ ВЕЗИКУЛ

Ганцева А.Р., Ганцева Е.Р.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия.*

*E-mail: gantceva.ar16@physics.msu.ru*

**Введение.** Плазменная система свертывания крови представляет собой сложный каскад ферментативных реакций. Под действием конечного фермента каскада — тромбина — растворимый белок фибриноген превращается в фибрин, который полимеризуется и формирует фибриновый сгусток, предотвращающий потерю крови [1]. Тромбин получается из протромбина в результате расщепления двух пептидных связей [3] ферментом — фактором Ха. Для того, чтобы эта реакция шла с высокой скоростью, ему необходимы кофакторы — фактор Va и отрицательно заряженная фосфолипидная поверхность, предоставляемая активированными тромбоцитами, микровезикулами или липопротеинами плазмы. Факторы Ха и Va связываются с мембранами с помощью ионов кальция и формируют ферментативный комплекс, протромбиназу, который активирует протромбин на пять порядков быстрее, чем одиночный фактор Ха [2].

**Цель.** Построить математическую модель, описывающую процесс сборки комплекса протромбиназы и активации протромбина на поверхности фосфолипидных везикул.

**Методы.** Построение математической модели осуществлялось на основе основного постулата химической кинетики — закона действующих масс. С помощью этого закона были записаны 11 дифференциальных уравнений относительно концентраций реагирующих веществ. Интегрирование проводилось в среде Microsoft Visual Studio 2008 методом Рунге-Кутты 4 порядка. Для валидации модели использовались литературные экспериментальные данные.

**Результаты.** Предложенная система ДУ описывает следующие процессы: 1) Связывание факторов Ха, Va, II с мембраной везикулы 2) образование комплекса протромбиназы на мембране 3) связывание протромбина из объема с протромбиназой 5) связывание протромбина и протромбиназы на мембране 6) активация протромбина протромбиназой. Значения неизвестных констант скоростей реакций были подобраны. Полученные в ходе моделирования результаты хорошо описывают экспериментальные данные. Согласно проведенным расчетам, при уменьшении радиуса везикулы уменьшается константа связывания факторов с мембраной везикулы и увеличивается афинность факторов друг к другу на поверхности мембраны.

**Итоги.** Предложенная схема сборки протромбиназы и активации протромбина на поверхности везикул исследована и подтверждена теоретически.

### Литература

1. Бутылин А.А., Пантелеев М.А., Атауллаханов Ф.И. Пространственная динамика свертывания крови // Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева. 2007. т. 51. No. 1. С. 45–50.



2. Пантелеев М.А., Атауллаханов Ф.И. Свертывание крови: биохимические основы // Клиническая онкогематология. 2008. т.1. No. 1. С. 50–62.
3. Peter L. A. Giesen, George M. Willems, H. Coenraad Hemker, Wim Th. Hermens Membrane-mediated assembly of the prothrombinase complex // J. Biol. Chem. 1991 266(28):18720–18725.
4. Michael E. Nesheim, James B. Taswell, Kenneth G. Mann The contribution of bovine factor V and factor Va to the activity of prothrombinase // J. Biol. Chem. 1979 254(21): 10952–10962.
5. Randall K. Walker, Sriram Krishnaswamy The activation of prothrombin by prothrombinase complex // J. Biol. Chem. 1994 269(44): 27441–27450.

## ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕХАНИЗМА СБОРКИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КОМПЛЕКСА ПРОТРОМБИНАЗЫ НА ПОВЕРХНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ

Ганцева Е.Р., Ганцева А.Р.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия.*

*E-mail: kattia\_gantseva@mail.ru*

**Введение.** Плазменная система свертывания крови представляет собой сложный каскад ферментативных реакций. Под действием конечного фермента каскада — тромбина — растворимый белок фибриноген превращается в фибрин, который полимеризуется и формирует фибриновый сгусток, предотвращающий потерю крови [1]. Тромбин получается из протромбина в результате расщепления двух пептидных связей [3] ферментом — фактором Ха. Для того, чтобы эта реакция шла с высокой скоростью, ему необходимы кофакторы — фактор Va и отрицательно заряженная фосфолипидная поверхность, предоставляемая активированными тромбоцитами, микровезикулами или липопротеинами плазмы. Факторы Ха и Va связываются с мембранами с помощью ионов кальция и формируют ферментативный комплекс, протромбиназу, который активирует протромбин на пять порядков быстрее, чем одиночный фактор Ха [2].

**Цель.** Построить математическую модель, описывающую процесс сборки комплекса протромбиназы и активации протромбина на поверхности активированных тромбоцитов.

**Методы.** Построение математической модели осуществлялось на основе основного постулата химической кинетики — закона действующих масс. С помощью этого закона были записаны 11 дифференциальных уравнений относительно концентраций реагирующих веществ. Интегрирование проводилось в среде Microsoft Visual Studio 2008 методом Рунге-Кутты 4 порядка. Для валидации модели использовались литературные экспериментальные данные.

**Результаты.** Предложенная система ДУ описывает следующие процессы: 1) Связывание факторов Ха, Va, II с мембраной тромбоцита 2) образование комплекса протромбиназы на мембране 3) связывание протромбина из объема с протромбиназой 5) связывание протромбина и протромбиназы на мембране 6) активация протромбина протромбиназой. Значения неизвестных констант скоростей реакций были подобраны. Полученные в ходе моделирования результаты хорошо описывают экспериментальные данные.

**Итоги.** Предложенная схема сборки протромбиназы и активации протромбина на поверхности активированных тромбоцитов исследована и подтверждена теоретически.

### Литература

1. Бутылин А.А., Пантелеев М.А., Атауллаханов Ф.И. Пространственная динамика свертывания крови // Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева. 2007. т. 51. No. 1. С. 45–50.

2. Пантелеев М.А., Атауллаханов Ф.И. Свертывание крови: биохимические основы // Клиническая онкогематология. 2008. т.1. No. 1. С. 50–62.
3. Peter L. A. Giesen, George M. Willems, H. Coenraad Hemker, Wim Th. Hermens Membrane-mediated assembly of the prothrombinase complex // J. Biol. Chem. 1991 266(28):18720–18725.
4. Michael E. Nesheim, James B. Taswell, Kenneth G. Mann The contribution of bovine factor V and factor Va to the activity of prothrombinase // J. Biol. Chem. 1979 254(21): 10952–10962.
5. Randall K. Walker, Sriram Krishnaswamy The activation of prothrombin by prothrombinase complex // J. Biol. Chem. 1994 269(44): 27441–27450.

ПРИМЕНЕНИЕ СПЕКТРОСКОПИИ ЭПР  
ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ  
ПРИ ПРОЯВЛЕНИЯХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Грачев Д.И.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия.*

*E-mail: Dimitri1995@yandex.ru*

Среди проблем современной медицины одной из важнейших является проблема хронической сердечной недостаточности. В данной работе рассматриваются изменения конформационных характеристик в молекулах сывороточного альбумина – важнейшего транспортного белка плазмы крови человека, физико-химических свойств эритроцитов человека. Проанализированы возможности спектроскопии ЭПР в решении задач физико-химической медицины.

Многими исследователями демонстрируется возможная связь подобных изменений с патогенезом ряда заболеваний (в первую очередь, различные виды онкологических заболеваний), однако наличие и характер таких изменений при патологиях сердечно-сосудистой системы остаются не вполне понятными [1,2].

В ряде исследований показано, что способность эритроцитов изменять форму и размеры играет огромную роль в функционировании сердечно-сосудистой системы [3]. При этом необходимая для прохождения через капилляры деформируемость эритроцитов определяется эластичностью и вязкостью их плазматических мембран. Значимую роль при патогенезе заболеваний сердечно-сосудистой системы играют отклонения от нормального функционирования эритроцитов, приводящие при острых коронарных синдромах к нарушению микроциркуляции крови.

В нашей работе с помощью спектроскопии ЭПР детально изучена взаимосвязь между спектральными параметрами спин-меченых аналогов стеариновой кислоты и характеристиками центров связывания жирных кислот на молекуле сывороточного альбумина в норме и при различных отклонениях в характеристиках крови, обусловленных возникновением сердечно-сосудистой недостаточности. Также проведено сравнительное исследование физико-химических свойств эритроцитов в норме и при наличии признаков сердечно-сосудистой недостаточности. Кроме того, исследованы некоторые аспекты гемолиза эритроцитов пациентов с разными параметрами крови.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 18-015-00125.

### **Литература**

1. S. C. Kazmierczak, A. Gurachevsky, G. Matthes, V. Muravsky. Electron Spin Resonance Spectroscopy of Serum Albumin: A Novel New Test for Cancer Diagnosis and Monitoring // Clin. Chem, 2006, 52, No. 11, 2131.

2. M. Moergel, P W. Kämmerer, K. Schnurr, M O. Klein , Al-Nawas. Spin electron paramagnetic resonance of albumin for diagnosis of oral squamous cell carcinoma // (OSCC) Clin Oral Invest. 2012, 16:1529–1533.
3. M. Montagnana, G. Cervellin T. Meschi, G. Lippi. The role of red blood cell distribution width in cardiovascular and thrombotic disorders. // Clin Chem Lab Med. 2012; 50(4):635–641.

## ДИФFUЗИЯ ПАРАМАГНИТНЫХ ЧАСТИЦ В ГРАДИЕНТНОМ МАГНИТНОМ ПОЛЕ, СОЗДАВАЕМОМ СИСТЕМОЙ ДИАМЕТРАЛЬНО НАМАГНИЧЕННЫХ ПАР МИКРОПРОВОДОВ

Гуревич А., Беклемишева А., Панина Л.

*НИТУ МИСИС, Институт проблем проектирования в микроэлектронике  
РАН, Москва, Россия. E-mail: [Gurevich-Anastasia@yandex.ru](mailto:Gurevich-Anastasia@yandex.ru),  
[AnnaBekl@ya.ru](mailto:AnnaBekl@ya.ru)*

Широко изучены методы клеточных манипуляций и контроля движения магнитных наночастиц, которые имеют большой диапазон применения в биофизике, медицинской физике и биомедицине [1,2]. Были проведены исследования, которые показали, что парамагнитные [3] и диамагнитные [4] объекты чувствительны к воздействию градиентных магнитных полей. Разработаны различные системы сортировки и захвата клеток [5].

Предлагается альтернативная периодическая система аморфных ферромагнитных микро-проводов на основе Co, в биосовместимой оболочке, которые обладают магнитомягкими свойствами и могут быть легко намагничены вдоль диаметра, создающие сильные градиентные магнитные поля, порядка  $10^3$ – $10^5$  Тл/м.

Такие матрицы могут внедряться в ткани тела, кровотоки, клеточные суспензии и использоваться для поддержания функционирования и движения магнитных наночастиц в тканях крови и тела, организации клеточной суспензии магнитомаркированных клеток. Например, ускоренной диффузии магнитных наночастиц (МНЧ), находящихся в жидкости-носителе. Рисунок 1 показывает квазистационарное распределение МНЧ вблизи диаметрально намагниченного микро-провода. Для коэффициента диффузии порядка  $3 \cdot 10^{-12} \text{ м}^2/\text{с}$ , радиуса провода 10 микрон, намагниченности провода 500 Г и относительной магнитной восприимчивости МНЧ порядка  $10^{-2}$  характерное время выхода на стационарный режим составляет порядка 30 секунд. Можно продемонстрировать, при парамагнитной восприимчивости порядка  $10^{-4}$  и характерных параметров диффузии в жидкости концентрация частиц локализуется вблизи системы из пары микро-проводов (рис. 2) в течении 30 секунд.

В случае, когда контакт с клетками губителен для клеток или эксперимента, диаметрально намагниченность позволяет реализовать минимум магнитной потенциальной энергии (как показано на рис. 4, где представлены эквипотенциальные кривые плотности магнитной энергии), и создать уникальный профиль распределения магнитного поля с седловидным минимумом (рис. 3), что позволяет реализовать левитацию диамагнитных клеток с относительной восприимчивостью порядка  $10^{-5}$ . Соответственно, такие поля могут быть востребованы для бесконтактного удержания диамагнитных клеток, левитации диамагнитных клеток, диамагнитного захвата, сортировки суспензии клеток.

Предлагаемая система представляет интерес для применения в клеточной терапии и предлагает оригинальные метод бесконтактного магнитного захвата, контроля движения клеток, агломераций наночастиц и точечной доставки лекарств.

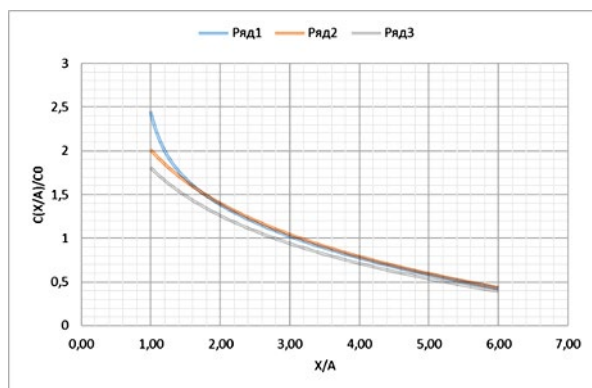


Рис. 1. Распределение концентрации МНЧ  $c(x/a)/c_0$  вдоль оси  $x$  (направление намагничивания) в стационарном режиме ( $c_0$  - начальная концентрация). Графики концентраций построены для разных значений параметра  $Y = \frac{\mu_0 V \chi M^2}{2kT}$ , (1-  $Y=1$ , 2-  $Y=0.01$ , 3-  $Y=0.001$ ).

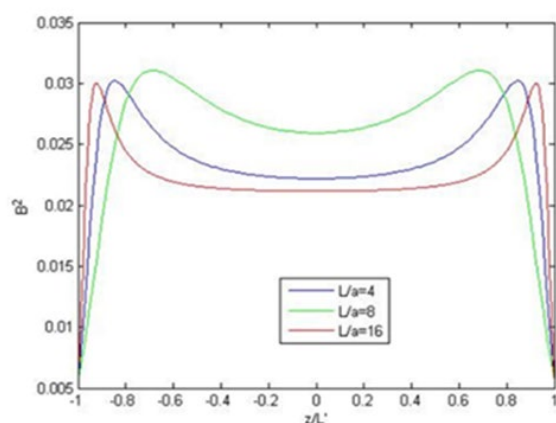


Рис. 3. Распределение квадрата поля  $[T^2]$  от двух микро-проводов для трех разных длин  $L/a=4,8,16$ .  $y/a = 1$ .

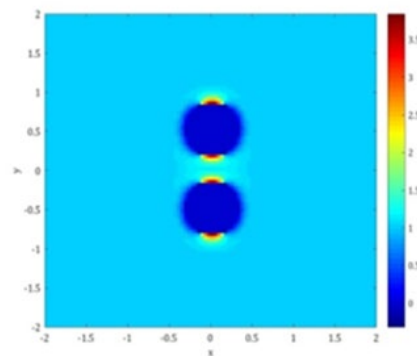


Рис. 2. Перераспределение потока МНЧ (8) под влиянием магнитного поля пары диаметрально намагниченных микро-проводов,  $D = 3 \cdot 10^{-12} \frac{M^2}{c}$ ,  $T=300K$ ,  $\rho = 10^3 \frac{кг}{м^3}$ ,  $k_B = 1.38 \cdot 10^{-23} \frac{Дж}{К}$ ,  $V = 5 \cdot 10^{-18} м^3$ ,  $\chi = 10^{-2}$ .

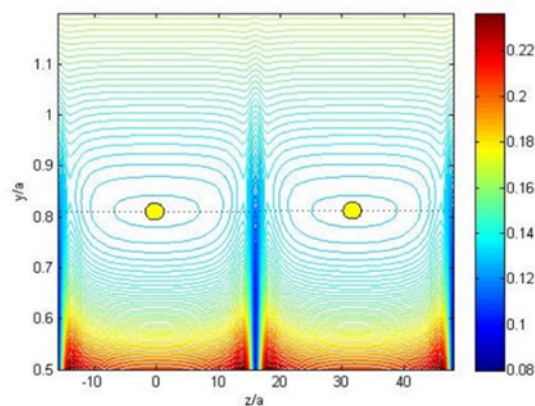


Рис. 4: Эквипотенциальные кривые полной энергии в плоскости ( $x = 0$ ) для периодической системы микропроводов. Показано распределение вблизи трех проводов. Параметры для расчета:  $a = 0.7 \cdot 10^{-5}$ ,  $d = 2a$ ,  $F_g = 10^4$ ,  $\chi = -10^{-5}$ ,  $L = 16a$ . Клетка захватывается магнитной ловушкой над микро-проводами.

## Литература

1. Nguyen H. P., Vy T. H. Pham et al The effect of a high frequency electromagnetic field in the microwave range on red blood cells// British Journal of Applied Science & Technology 2017. 7. № 10798.
2. Kunze A., Murray C. T. et al Modulating motility of intracellular vesicles in cortical neurons with nanomagnetic forces//lab on chip 2017. № 17. 842.
3. Yu X., He R., Li S. et al Magneto-Controllable Capture and Release of Cancer Cells by Using a Micropillar Device Decorated with Graphite Oxide-Coated Magnetic Nanoparticles//Small 2013. 9. No. 22. 3895–3901.
4. Wang H., Zhang X. Magnetic Fields and Reactive Oxygen Species // International Journal of Molecular Sciences. 2017. 18. № 2175.
5. Kauffmann P., Dempsey N. M. et al Diamagnetically trapped arrays of living cells above micromagnets// Lab Chip. 2011. № 11 3153.

ХИРАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ САМООРГАНИЗАЦИИ  
ДИФЕНИЛАЛАНИНОВЫХ ПЕПТИДНЫХ НАНОТРУБОК

Жулябина О.А.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия.**E-mail: zhulyabina.o@yandex.ru*

Исследования соединений с точки зрения хиральных взаимодействий являются актуальной задачей биофизики. Объект называется хиральным, если его невозможно соединить со своим зеркальным отображением. Данное свойство является одним из основополагающих параметров иерархического структурообразования в молекулярной биологии. Понимание основ структурной организации биологических макромолекул позволит предсказывать структуры моделируемых соединений, а также их взаимодействия с другими классами молекул.

Многие биомолекулы хиральны. Однако в природе они встречаются только в L (левой) или D (правой) конформации. Ранее была сформулирована концепция смены знака хиральности: при прохождении через точки бифуркаций, нелинейная система имеет тенденцию к спонтанному формированию последовательности иерархических уровней с изменяющимся знаком хиральности заново образующихся структур и с увеличением их относительного масштаба [1].

Биомиметические макромолекулы и структуры обладают способностью к самоорганизации и являются достаточно простыми объектами со структурной точки зрения, однако прекрасно имитируют свойства биологических молекул, что позволяет их использовать в модельных подходах.

Одним из примеров таких макромолекул являются дифенилаланиновые пептидные нанотрубки. Дифенилаланин (FF) — это дипептид, состоящий из двух аминокислотных остатков фенилаланина. В результате самосборки молекулы дифенилаланина образуют кольцо, состоящее из шести мономеров. Далее происходит сборка нанотрубки по схеме «голова к хвосту»: между кольцами образуются водородные связи.

При моделировании структур на основе дифенилаланина большое значение имела хиральность исходных аминокислот (L или D) и конформация ( $\alpha$ -спираль ( $\alpha$ -helix) и  $\beta$ -лист ( $\beta$ -sheet)). В зависимости от этого менялась геометрическая конфигурация пептидных нанотрубок, полная энергия моделируемой системы, дипольный момент, поляризация. Было обнаружено, что трубки на основе D-фенилаланина формируются более толстыми и короткими, чем трубки на основе L-фенилаланина. Полная энергия структур на основе L-фенилаланина меньше для  $\alpha$ -структур, причем наибольшей энергией обладают L- $\beta$ -структуры. Дипольный момент и поляризация для L- $\beta$ -структур примерно в 2 раза больше, чем для L- $\alpha$ -структур, однако между D- $\alpha$ -структурами и D- $\beta$ -структурами значительных отличий в величине дипольного момента не обнаружено [2].

Также были исследованы дифенилаланиновые пептидные нанотрубки из экспериментальных кристаллографических баз данных, полученные рентгеновскими методами. Они состояли из спиральных витков, а не из колец, как предполагалось ранее. В экспериментальных трубках в соответствии с концепцией смены знака хиральности наблюдалось чередование L и D структур при переходе на более высокий уровень структурной организации. Также было обнаружено, что спиральные структуры энергетически более выгодны, чем кольцевые, так как их энергия ниже на величину порядка нескольких эВ.

Таким образом, обобщение полученных данных позволит построить единую систему, отражающую иерархическое структурообразование как в биологических макромолекулах, так и в отдельных самоорганизующихся материалах. Понимание основ структурной организации биомолекул имеет фундаментальное значение для биофизики, а также для практического применения при создании новых соединений в биологии и медицине.

Выражаю благодарность д.ф.-м.н. В.С.Быстрову и д.ф.-м.н. В.А.Твердислову за помощь в обсуждении материалов тезисов. Работа поддержана грантом РФФИ 19-01-00519-а.

### Литература

1. Tverdislov V. A. Chirality as a primary switch of hierarchical levels in molecular biological systems //Biophysics. – 2013. – Т. 58. – №. 1. – С. 128–132.
2. Bystrov V. S. et al. Investigation of physical properties of diphenylalanine peptide nanotubes having different chiralities and embedded water molecules //Ferroelectrics. – 2018. – Т. 525. – №. 1. – С. 168–177.

## ИЗМЕРЕНИЕ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК РАСТВОРОВ НА ОСНОВЕ ГЛИЦЕРИНА МЕТОДОМ АДИАБАТИЧЕСКОЙ КАЛОРИМЕТРИИ

Иванова А.А., Симоненко Е.Ю., Прядун В.В., Васильев А.Н., Яковенко С.А.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия.*

*E-mail: Annetkurella@yandex.ru*

Несмотря на то, что методы криоконсервации биоматериала активно развиваются, для многих линий клеток процент жизнеспособных клеток после заморозки-разморозки остается низким. Так, выживаемость сперматозоидов составляет только 40%–60%. Основными причинами повреждения клеток являются холодовой и осмотический шок, повреждения мембран из-за образования вне и внутриклеточных кристаллов.[1] Криопротекторы снижают негативное воздействие криоконсервации на клетки. Современные криопротекторы состоят из проникающих в цитоплазму клеток компонентов (глицерин, этиленгликоль, диметилсульфоксид и др.) и непроникающих (сахароза, трегалоза, поливинил алкоколь и др.). Многие коммерческие криопротекторные среды в качестве проникающего базового компонента используют глицерин, поскольку он наносит наименьшее токсическое повреждение клеткам [2]. Об эффективности сред для криоконсервации биологического материала обычно судят по изменениям жизненно важных свойств клеток. В работе предложена модификация метода адиабатической калориметрии для измерения термодинамических характеристик сред на основе глицерина. Данный метод позволит выбирать компонент при составлении криопротектора не только на основе изменения клеток, но и на основе изменения физико-химических параметров среды.

Целью настоящей работы является измерение калориметрических характеристик буферного раствора с добавлением в него глицерина и альбумина.

В работе исследовался раствор глицерина (AppliChem, Panreac, 151339, 99%) в концентрации 12 (об. %), основанного на буфере Hepes 20мМ (Sigma). Буфер включал в себя различные компоненты в обычных для клеточных сред концентрациях. Для получения зависимости теплоемкости от температуры был использован калориметр PPMS (Physical Property Measurement System, Quantum Design, Inc. , USA). Метод калориметрии был модифицирован для измерения жидких сред. Был разработан контейнер из дюралюминия, куда помещался изучаемый раствор. В ходе выполнения работы был разработан следующий алгоритм эксперимента и обработки полученных данных:

- измерение зависимости теплоемкости от температуры для контейнера;
- охлаждение образца до  $T=70\text{K}$ , получение зависимости теплоемкости от температуры при нагревании образца до  $T=295\text{K}$  с шагом порядка 2,5 К, со средней скоростью нагрева образца 0,002 К/с, вычитание данных для контейнера;
- построение производной теплоемкости по температуре для выявления областей фазовых переходов и изменений агрегатных состояний;

- определение изменения основных термодинамических характеристик для исследуемого образца (энтропии  $\Delta S$  и энтальпии  $\Delta H$ ).

В рамках работы были измерены калориметрические характеристики для двух буферных растворов: первый содержал 12 об.% глицерина, второй содержал глицерин в той же концентрации и к нему был добавлен человеческий белок альбумин (4 мг/мл).

Для расчета изменения термодинамических параметров энтропии и энтальпии из экспериментального графика вычиталась экстраполированная теплоемкость по Дебаю. Изменения энтропии и энтальпии были рассчитаны по следующим формулам, где  $T_n$  - температура начала фазового перехода первого рода:

$$\Delta S = \int_0^{T_n} \frac{c}{T} dT, \quad \Delta H = \int_0^{T_n} c dT$$

Результаты расчетов представлены в Таблице 1. Температура  $T_n$  получена из экстраполяции теплоемкости в жидкой фазе.

Таблица 1. Калориметрические характеристики исследуемых образцов

Параметры	Раствор: буфер, глицерин	Раствор: буфер, глицерин, человеческий белок альбумин
$\Delta S$ , Дж/К*моль	$6,17 \pm 0,03$	$6,7 \pm 0,44$
$\Delta H$ , Дж/моль	$1360 \pm 68$	$1440,56 \pm 14,54$
Температура плавления, °К	247,3	245,3
Температура стеклования, °К	168,9	167,4
Температура Дебая, °К	298	315

Из полученных результатов видно, что при добавлении белка (альбумина) фазовый переход первого рода начинается при более низком значении температуры. Температурный промежуток смешанной фазы стеклования и жидкости уменьшается, что повышает выживаемость клеток [4]. Так как промежуток изменяется незначительно, необходимы дополнительные методы исследования физико-химических свойств данного раствора.

Таким образом, предлагаемый в работе метод позволит понять, как меняются характеристики сред для криоконсервации биологического материала при добавлении в них тех или иных новых компонент, изучить фазовые переходы и изменения агрегатных состояний. Основываясь не только на показателях клеток, но и на термодинамических показателях криопротекторов можно будет подобрать среды, способствующие лучшему выживанию клеток при криохранении.

### Литература

1. A.I. Zhmakin, UFN J. 178(3), 243 (2008).
2. K. Shimada, in Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Pape (The Institute of Low Temperature Science, Hokkaido, 1978), pp. 49–69.
3. A. Khod'ko, Kharkov University Bulletin, Chemical Series. 21 (44), 177 (2012).

МОНИТОРИНГ ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА БАКТЕРИЙ  
В ФАРШЕ ОХЛАЖДЕННОЙ ФОРЕЛИ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ УСКОРЕННЫХ  
ЭЛЕКТРОНОВ С ЭНЕРГИЕЙ 1 МЭВ

Черняев А.П., Авдюхина В.М., Близнюк У.А., Борщеговская П.Ю.,  
Ипатова В.С., Леонтьев В.А., Семенова М.Н., Студеникин Ф.Р.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия.  
E-mail: vikipatova@gmail.ru*

В последние годы радиационные технологии активно применяются для решения проблемы продления сроков хранения продуктов питания. Использование источников ионизирующих излучений при обработке различных видов пищевой продукции ограничено определенными диапазонами доз. При больших дозах могут происходить различные химические изменения (изменение структурной целостности продукта, его органолептических и физико-химических свойств). Низкие дозы в свою очередь не приводят к достаточному ингибированию биологической микрофлоры, что не решает задачу увеличения сроков хранения продукции. Таким образом, исследования воздействия различных видов ионизирующих излучений на биологические, физико-химические и органолептические свойства сельскохозяйственной продукции, мясной и рыбной продукции, а также мяса птицы являются на сегодняшний день актуальными [1, 2].

В настоящий момент на кафедре физики ускорителей и радиационной медицины физического факультета МГУ совместно с НИИЯФ МГУ имени Д.В. Скобельцына, а также ФГБНУ ВИЛАР ведутся исследования по применению различных видов ионизирующих излучений при радиационной обработке продуктов питания, в том числе рыбной и сельскохозяйственной продукции [3, 4]. Известно, что допустимые поглощенные дозы для обработки рыбы, морепродуктов (свежих или замороженных) и продуктов их переработки следующие: до 10 кГр (снижение количества определенных патогенных микроорганизмов), 3 кГр (увеличение срока хранения), 2,0 кГр (контроль за заражением паразитами); в свою очередь минимальная доза не менее 0,15 кГр [5, 6].

Рыба и морепродукты являются скоропортящимися продуктами, поскольку в них содержатся микроорганизмы, быстро развивающиеся при температурах, превышающих среду их обитания. Общая микробная обсемененность, включающая гнилостные аэробные бактерии (*Pseudomonas* и *Achromobacter*), а также спорообразующие анаэробные микроорганизмы (*Clostridium*) и условно-патогенные бактерии (*Salmonella enteritidis* и *Escherichia coli*) на замороженной рыбной продукции может варьироваться от  $10^2$  до  $10^7$  КОЕ/г. Предельно допустимое количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в охлажденной и замороженной рыбной продукции в соответствии со стандартами качества составляет не более  $10^5$  КОЕ/г [7].

Данная работа посвящена исследованию обсемененности свежей охлажденной форели после радиационной обработки низкоэнергетическими электронами в различных дозах в течение длительного периода хранения продукта.

В качестве объекта исследования использовали охлажденную форель радужную. Гомогенат форели помещали в стерильные пробирки типа эппендорф. Облучение образцов проводилось на ускорителе электронов непрерывного действия УЭЛР-1-25-Т-001 с энергией 1 МэВ и средней мощностью пучка 25 кВт. Дозы в опытных образцах определялись с использованием ферросульфатного метода дозиметрии.

Сеансы облучения проводились при температуре 20°C. Далее в течение 15 суток образцы хранились при температуре 2–4 °С, и каждые три дня осуществлялся мониторинг их микробиологических показателей.

Образцы облучались в дозах 0,24 кГр, 0,48 кГр, 0,96 кГр, 2,8 кГр и 5,6 кГр. Установлено, что кинетика изменения количества клеток с течением времени во всех образцах носила немонотонный характер. Обсемененность контрольных образцов изначально составляла  $6,6 \times 10^3$  КОЕ/г. На 11 сутки данный показатель превысил предельно до-



пустимый уровень обсемененности рыбной продукции, с 11 по 15 сутки она возросла до  $2 \times 10^8$  КОЕ/г. Количество жизнеспособных бактерий в образцах, облученных в дозе 0,24 кГр за все время наблюдения не превысило  $10^6$  КОЕ/г, при этом на 15 сутки образцы стали абсолютно стерильными. Количество бактерий в образцах, облученных в дозах 0,48 кГр и 0,96 кГр, с 8 по 11 сутки наблюдения увеличилось в 10000 раз по сравнению с начальным уровнем обсемененности, затем на 15 сутки эти показатели уменьшились до  $10^5$  КОЕ/г, что соответствует предельно допустимому уровню обсемененности рыбной продукции. Количество живых бактерий в образцах, облученных в дозах 2,8 кГр и 5,6 кГр, за все время наблюдения не превысило  $10^6$  КОЕ/г. На 15 сутки исследования бактерии в гомогенате, облученном в дозе 2,8 кГр, практически отсутствовали. В образцах, подвергшихся обработке в дозе 5,6 кГр, их количество составляло порядка  $10^6$  КОЕ/г, что также ниже контрольного уровня на момент проведения мониторинга более чем в 100 раз.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-016-00198а.

### Литература

1. Санжарова Н.И., Козьмин Г.В., и др. // Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности: состояние и перспективы: сборник докладов международной научно-практической конференции, Обнинск, 26–28 сентября 2018 г. Обнинск: ФГБНУ ВНИИРАЭ, 2018. С. 32–35.
2. Мусина О.Н., Коновалов К.Л. // Пищевая промышленность. 2016. №8. С. 46–49.
3. Bliznyuk U.A., Avdyukhina V.M. et al. // Moscow University Physics Bulletin. 2018. V. 73. №. 3, P. 334–338.
4. Bliznyuk U.A., Avdyukhina V.M. et al. // Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics. 2018. V. 82. № 6. P. 740–744.
5. Dosimetry for food irradiation. Technical report series // IAEA. 2002. V. 409. P. 161.
6. Кардашев А.В., Коржова Ю.А. // Труды ВНИРО. 1963. Т. 45. С. 15.
7. Долганова Н.В., Першина Е.В., Хасанова З.К. Микробиология рыбы и рыбных продуктов. – М.: Мир, 2005.

## ВЛИЯНИЕ ДИМЕРИЗАЦИИ БЕЛКА EB1 НА ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С МИКРОТРУБОЧКАМИ

Килина А.П.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия.*

*E-mail: kilinanastasia@gmail.ru*

Микротрубочки представляют собой полярные структуры, имеющие плюс- и минус-конец, различающиеся по своей структуре и функциям. Их плюс-концы спонтанно переключаются между фазами роста и укорочения, поэтому микротрубочки - это динамически нестабильные компоненты цитоскелета [2]. Микротрубочки состоят из белка тубулина, который во время полимеризации присоединяется к растущему концу вместе с находящимся в его кармане ГТФ. На растущем конце микротрубочек находится сайт связывания для белков EB.

Белки семейства EB (end-binding) присутствуют в клетках всех эукариотических организмов и являются одними из наиболее многочисленных белков, связывающихся с плюс-концами микротрубочек. EB1-белки — это димеры, состоящие из N-концевого кальпонин-гомологичного домена, линкера, суперспирализующегося домена, ответственного за димеризацию белка, EB-гомологичного домена (EBH), посредством которого белки семейства EB1 взаимодействуют с белками — партнерами, и неспирализованного гибкого хвоста [1].

Что касается работы EB1 *in vitro*, то он распознает N-доменом микротрубочку и связывается с её плюс-концом. Этот белок взаимодействует с четырьмя димерами ту-

булина: сайт связывания формируется двумя соседними альфа-тубулинами и двумя соседними бета-тубулинами [3]. К тому же известно, что связывание чувствительно к нуклеотиду, EB1 увеличивает скорость роста микротрубочек, они увеличивают число катастроф *in vitro* и уменьшают *in vivo* [2, 4].

Возникает вопрос: если с микротрубочками взаимодействует кальпонин-гомологичный N-домен, тогда зачем необходима остальная часть белка? В данном исследовании стоит цель найти минимальный функциональный домен белка EB1, обладающий такой же динамикой, как и полный белок.

Для анализа динамики используется TIRF микроскопия. Эксперимент проводится в проточной камере. Проверяется влияние выделенных заранее белков EB1 и его фрагментов (N-домен + линкер) при разных концентрациях на динамику микротрубочек при фиксированной концентрации тубулина. Набирается статистика наблюдений полимеризации микротрубочек, из которой с помощью программы обработки изображений ImageJ формируется график зависимости количества катастроф и скорости роста от концентрации полного белка и его части. Полученные результаты сравниваются и выдвигаются возможные механизмы взаимодействия белка EB1 с микротрубочками, которые могут дать такой результат.

### Литература

1. Мустяца В. В. и др. Белки семейства EB: функции и механизмы взаимодействия с микротрубочками, Биохимия, том 82, вып. 7. 2017.
2. Komarova et.al (2009). Mammalian end binding proteins control persistent microtubule growth, *J. Cell Biol.*, 184, 691–706.
3. Maurer et.al (2012). EBs recognize a nucleotide – dependent structural cap at growing microtubule ends, *Cell* 149, 371–382.
4. Maurer et.al (2014). EB1 accelerates two conformational transitions important for microtubule maturation and dynamics, *Curr. Biol.*, 24, 372–384. 80.

## QM/MM ДИССОЦИАЦИЯ ПАРЫ ЦИТОЗИНОВ ОПОСРЕДОВАННЫХ ИОНОМ СЕРЕБРА

Клюев П.Н., Рамазанов Р.Р.

*С-ПбГУ, Санкт-Петербург, Россия*

*E-mail: phillveber@gmail.com, kubastyi@gmail.com*

Для стабилизации различных надмолекулярных самособирающихся ДНК наноструктур в последние годы широко рассматривают использование переходным металлов, например серебра [1]. Стабилизированные ионами серебра цитозины вдоль оси спирали могут быть использованы в качестве строительных блоков для создания стабильных в растворе наномашин [2]. При значениях pH близким к нейтральной позиции N<sub>3</sub> становятся депротонированными, а при добавлении соли серебра AgNO<sub>3</sub> происходит специфичное комплексообразование с ионами Ag<sup>+</sup> и образование сшивок типа C<sup>-</sup>Ag<sup>+</sup>C [3]. Структура сшивки C<sup>-</sup>Ag<sup>+</sup>C может иметь цис- и транс- конфигурацию в зависимости от направления amino- и карбокси- групп относительно оси связи с серебром.

В данной работе проводилось исследование профиля реакции диссоциации двух изомеров стабилизированных ионом серебра с использованием комбинированного метода QM/MM в программном пакете CP2K. С помощью методики термодинамического интегрирования по траектории молекулярной динамики по координате реакции были получены профили изменения свободной энергии. Было показано, что в случае комплексов с ионами серебра для обоих изомеров существует конфигурация с более глубоким минимумом по энергии, относительно которого энергетические барьеры диссоциации для цис- и транс-конфигурации существенно отличаются. Относительно главного

минимума цис-конфигурация выглядит предпочтительней транс-конфигурации, поскольку относительно диссоциации обладает большим энергетическим барьером. Данная работа была выполнена в рамках проекта, поддержанного грантом РФФИ №17-73-10070.

### Литература

1. Alberti P.; Bourdoncle A.; Saccà B.; Lacroix L.; Mergny J. L. DNA Nanomachines and Nanostructures Involving Quadruplexes. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, 4 (18), 3383–3391.
2. Day H. A.; Huguin C.; Waller Z. A. E. Silver Cations Fold I-Motif at Neutral PH. *Chem. Commun.* **2013**, 49 (70), 7696–7698.
3. Jash B.; Müller J. Metal-Mediated Base Pairs: From Characterization to Application. *Chem. - A Eur. J.* **2017**, 23 (68), 17166–17178.

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН И РОСТ РАСТЕНИЙ

Коваль А.С.

*Астраханский государственный университет, Астрахань, Россия,  
nastikakoval99@mail.ru*

В настоящее время актуальной проблемой биологической науки является поиск новых технологий для целенаправленного воздействия на животные и растительные организмы. Часто подобные технологии основываются на воздействии физических факторов, например, известны исследования, как отечественные и зарубежные, связанные с получением положительных результатов воздействия лазерного излучения на прорастание семян, устойчивость к болезням, рост и развитие растений, повышение урожайности сельскохозяйственных культур [1]. При этом следует отметить и некоторые недостатки такого воздействия — при облучении семян небольшими дозами можно оказать, как и активирующее воздействие, так и угнетающее. При этом ход этого процесса невозможно предсказать.

В основном все полученные результаты этих исследований анализируются сравнительно-аналитическим методом. Т.е. материал разбивается на группы, которые подвергаются воздействию лазерного излучения (изменяется время воздействия, период времени года, мощность и т.д.) и контрольную группу, а затем сравниваются показатели всхожести, рост, урожайность контрольной и испытуемых групп. [2,3] Известно, что воздействие лазерного излучения в большей степени повышает скорость и степень прорастания семян культурных растений по сравнению с контрольной группой. Однако, механизм такого воздействия не исследован, поэтому целью нашего исследования является попытка выяснить какие изменения в структуре семян, ростков происходят в результате такого воздействия.

Предметом исследования в работе являются семена культурных растений, в частности семейства пасленовых, подвергнутые лазерному облучению различной мощности.

Далее с одной стороны необходимо контролировать всхожесть, урожайность, жизнедеятельность сельскохозяйственных культур и фиксировать результаты, а с другой стороны физическими методами, в частности, методом ИК-спектроскопии, попытаться установить изменения, происходящие с семенами после лазерного излучения.

Первая серия экспериментов показала ускорение прорастания, роста и развития семян пасленовых. Экспериментальные исследования будут продолжены, будут внесены дополнительные факторы исследования. Полученные положительные данные можно будет рекомендовать к использованию лазерного излучения в сельском хозяйстве, но строго при определенных параметрах частоты, мощности и времени, для улучшения

всхожести семян, устойчивости к болезням, температурным воздействиями, и как следствие для получения более высокого урожая.

### Литературы

1. Беляков, М.В. "Опτικο-электронная технология и средства управления биологической активностью семян ": автореф. дис. на соиск. степ. к.т.н.: Спец. 05.20.02. – М., 2008. – 18 с. – Режим доступа: <http://www.msau.ru>.
2. Амиржанова А.Ж., Уталиева А.А., Алыкова О.М., Поплевин А.В., Селин П.Г. Анализ результатов воздействия лазерного излучения на жизнедеятельность элементов агрофитоценоза // Современные проблемы физики и технологий. V-я Международная молодежная научная школа-конференция. — М., Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», 2016, 2016.— С. 199–202.
3. Алыкова О.М., Смирнов В.В. Изучение связи воздействия лазерного излучения на жизнедеятельность элементов агрофитоценоза со структурными изменениями, происходящих в них при этом. Сборник трудов XIV Международной учебно-методической конференции «Современный физический практикум». Москва 27–29 сентября 2016, М., Издательский дом Московского физического общества, с. 274–275.

## РОЛЬ ГУАНИНОВЫХ КВАДРУПЛЕКСОВ В ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ

Коновалов Д.Л.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия*

Гуаниновые квадруплексы это неканонические вторичные структуры ДНК образующиеся из богатых гуанином последовательностей ДНК. Квадруплексы широко распространены в геноме человека и ассоциированы с рядом генетических заболеваний [1]. Роль многих таких структур в геноме, на данный момент является неизвестной. При этом существует множество свидетельств связи квадруплексов с эпигенетической регуляцией, но на данный момент не выявлено общего правила. Такое правило, по всей видимости, является сложным (как минимум не линейным, так сообщалось о увеличении числа квадруплексов при гипометилировании[2], и о том, что стабильность квадруплексов увеличивалась при гиперметилировании [3], [4]).

В связи с этим существует необходимость уточнения устройства механизма эпигенетической регуляции активности квадруплексов, что и является целью данной работы. Для этого был проведен статистический анализ эпигенетических данных проекта «Roadmap Epigenomics»[5], в том числе результатов бисульфитного секвенирования 145-ти образцов 43-х различных человеческих тканей.

### Литература

1. Maizels, Nancy. "G4-associated human diseases." *EMBO reports* 16.8 (2015): 910–922.
2. François, Maxime, et al. "Folate deficiency and DNA-methyltransferase inhibition modulate G-quadruplex frequency." *Mutagenesis* 31.4 (2016): 409–416.
3. Li, Pei-Tzu, et al. "Expression of the human telomerase reverse transcriptase gene is modulated by quadruplex formation in its first exon due to DNA methylation." *Journal of Biological Chemistry*(2017): jbc-M117.
4. Lin, Jing, et al. "Stabilization of G-quadruplex DNA by C-5-methyl-cytosine in bcl-2 promoter: implications for epigenetic regulation." *Biochemical and biophysical research communications* 433.4 (2013): 368–373.
5. <http://www.roadmapepigenomics.org>

## КАЛЬЦИЕВАЯ СИГНАЛИЗАЦИЯ В МЫШИНЫХ СПЕРМАТОЗОИДАХ

Коробкина Ю.Д.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия.  
juliajessika@gmail.com*

Кальциевая сигнализация используется для регуляции внутриклеточных процессов во многих эукариотических клетках, в том числе и в сперматозоидах млекопитающих. В них кальциевый ответ регулирует важные события оплодотворения, например, гиперактивацию (изменение характера движения жгутика) или акросомную реакцию (экзоцитоз фермент-содержащей органеллы акросомы) [1]. В сперматозоидах большей части млекопитающих данные явления могут быть индуцированы стероидным гормоном прогестероном, опосредованно активирующим локализованный в жгутике кальциевый канал CatSper [1]. В покое CatSper ингибирован липидом мембраны 2-арахидоноилглицеролом (2-АГ). Прогестерон активирует фермент ABHD2, катализирующий расщепление 2-АГ на арахидоновую кислоту и глицерин, что приводит к активации CatSper.

У грызунов данный кальциевый канал не активируется прогестероном, а 2-АГ покидает мембрану жгутика в ходе движения по половым путям [2]. Однако при концентрациях  $\sim 50 \mu\text{M}$  прогестерон всё же способен вызвать кальциевый ответ в мышинных сперматозоидах [2]. ABHD2 присутствует в мышинных сперматозоидах и активируется прогестероном, но локализуется в акросомальной мембране, а не в жгутике. Механизм, по которому данный стероидный гормон вызывает поднятие концентрации кальция, не ясен до конца [1].

Целью настоящей работы является уточнение механизмов кальциевого ответа в мышинных сперматозоидах при активации прогестероном.

На основе экспериментальных данных [1] и существующей математической модели [3] была построена математическая модель активации прогестероном мышинных сперматозоидов. Модель была проинтегрирована с помощью программного пакета COPASI (<http://copasi.org/>). Наблюдение активации сперматозоидов, окрашенных Fura Red или Fluo 5N производилось в режиме эпифлуоресценции на микроскопе Nikon TI Eclipse или на спектрофлуориметре.

Экспериментально было показано, что мышинные сперматозоиды активируются прогестероном в концентрации  $50 \mu\text{M}$  с характерным временем активации и ответа 60 секунд. Концентрация кальция покоя составляет  $0.1 \mu\text{M}$ , максимальная концентрация кальция при активации  $\sim 1.1 \mu\text{M}$ .

Построенная нами математическая модель способна описывать экспериментально наблюдаемый кальциевый ответ; при определенном соотношении параметров она также описывает низкочастотные кальциевые осцилляции, описываемые в литературе (однако не обнаруженные в поставленном эксперименте).

Также было показано, что прогестероновая активация мышинных сперматозоидов может быть ингибирована аспирином в концентрации  $10 \text{ мкг/мл}$ . Это указывает на возможную роль циклооксигеназ и производных арахидоновой кислоты в формировании кальциевого ответа.

**Литература**

1. Lishko, P.V., Botchkina, I.L., Kirichok, Y., 2011. Progesterone activates the principal  $\text{Ca}_2\text{p}$  channel of human sperm. *Nature* 471 (7338), 387–391
2. Xia, J., Reigada, D., Mitchell, C.H., Ren, D., 2007. CATSPER channel-mediated  $\text{Ca}^{2+}$  entry into mouse sperm triggers a tail-to-head propagation. *Biol. Reprod.* 77 (3), 551–559.
3. Li L.F., et al. *J. Theor. Biol.* 2014. Modeling of progesterone-induced intracellular calcium signaling in human spermatozoa.

## СПЕКТРЫ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ ГЛИЦИНА И ТАУРИНА

Крупина Н.В.

*Южно-Уральский государственный университет, г. Челябинск, Россия.**krupinanv@susu.ru*

В настоящей работе исследовались и сравнивались спектры глицина и таурина. Было выявлено, что в пределах от  $0\text{ см}^{-1}$  до  $1700\text{ см}^{-1}$  спектры таурина имеют частотный сдвиг по сравнению со спектрами глицина. В пределах от  $2200\text{ см}^{-1}$  до  $4700\text{ см}^{-1}$  появляются собственные частоты, отличные от глицина,  $2380\text{ см}^{-1}$ ,  $4395\text{ см}^{-1}$ ,  $4584\text{ см}^{-1}$ ,  $4675\text{ см}^{-1}$ .

Аминокислоты и их производные — важнейшие элементы в организме [14], структурная единица белков и волокон [13]. Все аминокислоты имеют общий углеродный скелет и похожую химическую формулу [14]. Наиболее распространённой аминокислотой в организме является глицин, который составляет примерно 30% от общего количества аминокислот [12], практически каждая третья аминокислота в белке — это глицин [13]. Таурин является производной серосодержащей кислотой от аминокислоты цистеина [14]. В его структурной формуле отсутствует карбоксильная группа [15]. На рисунках 1 и 2 представлены структурные формулы глицина и таурина соответственно [10]. Применение препаратов, содержащих таурин как в чистом виде, так и в виде смесей с другими веществами, оказывает благотворное воздействие на некоторые функции организма [1,2,3]. На сегодняшний день при лечении многих заболеваний применяются препараты, содержащие различные аминокислоты и их производные [3,5].

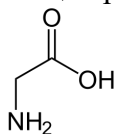


Рис. 1. Структурная формула глицина.

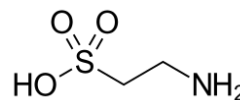
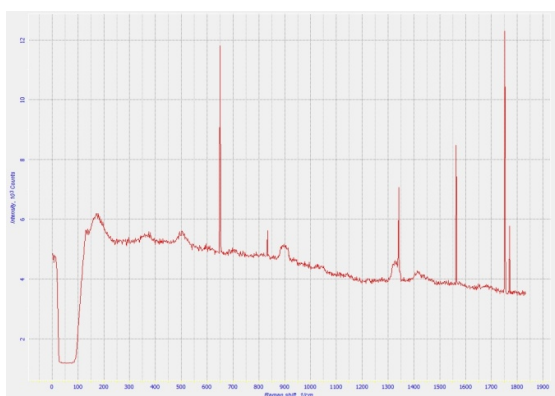
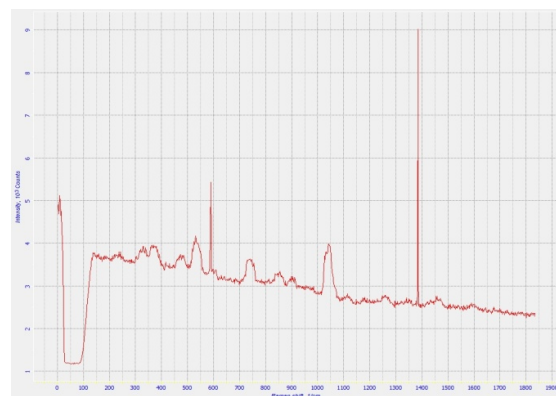


Рис.2. Структурная формула таурина.

Спектроскопия комбинационного рассеяния (СКР) дает возможность определять спектры неупругого рассеяния оптического излучения на молекулах вещества [4,6,7,8,11]. Благодаря этому СКР является эффективным методом химического анализа вещества [8,15]. На рисунках 3 и 4 представлены спектры комбинационного рассеяния глицина и таурина в частотных диапазонах от  $0\text{ см}^{-1}$  до  $1800\text{ см}^{-1}$ .

Рис. 3. СКР глицина в диапазоне от  $0\text{ см}^{-1}$  до  $1800\text{ см}^{-1}$ .Рис. 3. СКР таурина в диапазоне от  $0\text{ см}^{-1}$  до  $1800\text{ см}^{-1}$ .

Проанализировав полученные данные, увидели, что происходит смешение частот колебаний у таурина по сравнению с глицином. У глицина на частотах  $1751\text{ см}^{-1}$ ,  $1980\text{ см}^{-1}$ ,  $3089\text{ см}^{-1}$ ,  $3988\text{ см}^{-1}$ , наблюдаются интенсивные колебания, отличные от таурина. Тогда как у таурина колебания, отличные от глицина, наблюдаются на  $2380\text{ см}^{-1}$ ,

4395  $\text{cm}^{-1}$ , 4584  $\text{cm}^{-1}$ , 4675  $\text{cm}^{-1}$ . В области от 0 до 1700  $\text{cm}^{-1}$  происходит сдвиг по частам таурина относительно глицина, однако в пределах от 2500  $\text{cm}^{-1}$  частоты колебаний совпадают. Таким образом, замена карбоксильной группы сульфогруппу  $\text{SO}_3\text{H}$  в основном сказывается на изменении спектров комбинационного рассеяния в пределах от 0 до 1700  $\text{cm}^{-1}$ .

### Литература

1. Н.Б. Анюшин. Таурин: фармацевтические свойства и перспективы получения из морских организмов. Известия ТИПРО, том 129, 2001, с. 129–141.
2. Л.К. Хныченко, н.с. сапронов. Фармакологическая активность аминокислоты таурина. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии, том 3, 2004, с. 15–19.
3. Л.А. Звенигорская, О.Н. Овсянникова, К.К. Носкова, Т.В. Нилова, Е.П. Елизарова. Таурин в лечении неалкогольной жировой болезни печени. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология, № 7, 2010, с. 43–50.
4. A.L.O. Cavaignac, R.J.C. Lima, P.F. FaçanhaFilho, A.J.D. Moreno, P.T.C. Freire. High-temperature Raman study of L-alanine, L-threonine and taurine crystals related to thermal decomposition. Physica B, 484, 2016, pp. 22–26.
5. д.а. кириченко. Применение препарата таурин в комплексной терапии кардиоваскулярной и гастроинтестинальной форм диабетической автономной нейропатии при сахарном диабете 2 типа. Сибирский медицинский журнал, № 6, 2007, с. 15–17.
6. P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, J. Mendes Filho, R.J.C. Lima, A.M.R. Teixeira. The behavior of  $\text{NH}_3$  torsional vibration of L-alanine, L-threonine and taurine crystals under high pressure: A Raman spectroscopic study. Vibrational Spectroscopy, 45, 2007, pp. 99–102.
7. J.M. de Souza, R.J.C. Lima, P.T.C. Freire, J.M. Sasaki, F.E.A. Melo, J. Mendes Filho, Derry W. Jones. Raman spectra of deuteriated taurine single crystals. Spectrochimica Acta Part A, 61, 2005, pp. 1525–1527.
8. R. L. Moreira, R. P.S.M. Lobo, A. Dias. Infrared dispersion analysis and Raman scattering spectra of taurine single crystals. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 188, 2018, pp. 276–284.
9. N. Maiti, S. Thomas, A. Debnath, S. Kapoor.. Raman and XPS study on the interaction of taurine with silver nanoparticles. RSC Adv., 2016, 56406–56411.
10. CH. Arrigou-Lagrange. Analyse des spectres de vibration de la  $\beta$ -alanine, de la taurine et de la ciliatine- $\beta$ . CAN. J. CHEM., VOL. 56, 1978, pp. 663–669.
11. N. Derbel, et al. Vibrational Analysis of Amino Acids and Short Peptides in Hydrated Media. I. L-glycine and L-leucine. J. Phys. Chem. B 111, 2007, pp. 1470–1477.
12. Э.Р. Симонов. Пролиферация клеток фибробластического дифферона и жизнеспособность межклеточного вещества в регенерационном гистогенезе кожи. Гистогенез и регенерация тканей, 2014, с. 171–179.
13. А. Лененджер. Основы биохимии. Т.1. М.: – Мир. 1985, с. 367.
14. Т.Л. Алейникова, Л.В. Авдеева, Л.Е. Андрионова, Н.Н. Белушкина, Н.П. Волкова и др. Биохимия. Под редакцией Е.С. Северина. М.: Геотар-мед, с. 784, 2004.
15. G. Zhu, X. Zhu, Q.Fan, X. Wan. Raman spectra of amino acids and their aqueous solutions. Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc. 78, 2011, pp. 1187–1195.

### МОДЕЛЬ АКТИВАЦИИ ФАКТОРА ВИЛЛЕБРАНДА ГИДРОДИНАМИЧЕСКИМ ПОТОКОМ

Кущенко Ю.К.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия.  
E-mail: ttiikko00@gmail.com*

Фактор фон Виллебранда (VWF) — длинный мультимерный белок плазмы крови, который является посредником при первичном прикреплении тромбоцитов к местам повреждений. В отсутствии внешних воздействий молекула VWF имеет глобулярную

структуру. Если же белок одним концом прикреплен к подложке и помещен в гидродинамический поток, глобула под действием сдвигового напряжения разворачивается, переходя в состояние растянутого полимера. При этом активируется связывание специализированных доменов A1 фактора фон Виллебранда с рецепторами GPIIb тромбоцита [1, 2]. Логично предположить, что именно натяжение полимера, вызванное воздействием потока жидкости, приводит к конформационным изменениям домена A1 и его активации.

Для выявления молекулярного механизма активации фактора фон Виллебранда гидродинамическим потоком, была изучена компьютерная модель, описывающая динамику мультимера VWF, прикрепленного за один конец к плоской стенке в сдвиговом потоке вязкой жидкости. Были определены механические параметры димера фактора фон Виллебранда и проведена калибровка модели с использованием экспериментальных данных, найденных в литературе [2, 3]. Дальнейшее исследование предполагает изучение роли данного механизма в прикреплении тромбоцитов на начальной стадии тромбообразования.

### Литература

1. T. A. Springer. Von Willebrand factor, Jedi knight of the bloodstream. // *Blood* (2014), v. 124, pp. 1412–1425.
2. H. Fu, Y. Jiang, D. Yang, et al. Flow-induced elongation of von Willebrand factor precedes tension-dependent activation. // *Nature Communications* (2017), v. 8, pp. 324–1–12.
3. J. P. Muller, S. Mielke, A. Lof, et al. Force sensing by the vascular protein von Willebrand factor is tuned by a strong intermonomer interaction. // *PNAS* (2016), vol. 113, pp. 1208–1213.

## ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ И ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОХЛАЖДЕННОЙ ФОРЕЛИ ПОСЛЕ ОБРАБОТКИ УСКОРЕННЫМИ ЭЛЕКТРОНАМИ

Черняев А.П., Авдюхина В.М., Близнюк У.А., Борщеговская П.Ю.,  
Ипатов В.С., Леонтьев В.А., Семенова М.Н., Студеникин Ф.Р.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия.*

*E-mail: vleon-98@yandex.ru*

В настоящее время радиационные технологии активно развиваются и на практике находят применение в различных сферах. В частности, актуальна радиационная обработка продуктов питания с целью продлить сроки их хранения и увеличить безопасность продукции для потребителя в течение всего срока хранения [1]. Для большинства видов продукции применение ионизирующего излучения ограничено определенным диапазоном доз. В пределах диапазона, гарантирующего радиационную безопасность обработанного продукта, существует пограничное значение поглощенной дозы, превышение которого приводит к необратимым изменениям его физико-химических и, как следствие, органолептических свойств [2]. Нарушается структурная целостность, внешний вид, вкусовые качества, что делает продукт непригодным к употреблению. При этом дозы, значения которых существенно ниже этой границы, не обеспечивают достаточного ингибирования патогенной микрофлоры. Таким образом, изучение воздействия ионизирующих излучений на различные виды пищевой и сельскохозяйственной продукции, связанное с определением описанного диапазона доз, является актуальной задачей научных исследований и осуществляется в различных странах [3].

В настоящее время кафедра физики ускорителей и радиационной медицины физического факультета МГУ в сотрудничестве с НИИЯФ МГУ имени Д.В. Скобельцына и ФГБНУ ВИЛАР проводит исследования по обработке пищевой и сельскохозяйственной



продукции ионизирующим излучением. Изучается воздействие различных поглощенных доз на обсемененность патогенами и органолептические свойства различных видов продукции, в том числе картофеля, охлажденную рыбу [4].

Данная работа описывает исследование влияния ускоренных электронов в различных дозах на органолептические свойства охлажденной красной рыбы и на обсемененность патогенной микрофлорой фарша мяса красной рыбы. Объектом исследования была выбрана форель радужная охлажденная. Для оценки органолептических свойств мяса рыбы использовались куски массой  $30 \pm 3$  г, толщиной 6-8 мм. Для анализа микробиологических показателей была приготовлена суспензия гомогената фарша мяса форели в физиологическом растворе. Гомогенат помещали в стерильные пробирки типа эппендорф, куски упаковывали в вакуумную полимерную упаковку. Образцы обоих видов облучали на ускорителе электронов непрерывного действия УЭЛР-1-25-Т-001 (энергия электронов 1 МэВ, средняя мощность пучка 25 кВт). Поглощенные дозы в опытных образцах определялись с помощью моделирования с использованием кода GEANT4 для соответствующих параметров ускорителя. Все эксперименты проводились при температуре 20°C.

Оба вида образцов были облучены 5 различными дозами: 0,25 кГр (1), 0,5 кГр (2), 1 кГр (3), 3 кГр (4) и 6 кГр (5). Сразу после облучения куски форели подверглись органолептическому исследованию. В ходе его был произведен сравнительный анализ запаха и внешнего вида (цвета) сырой и термически обработанной рыбы, а также ее вкусовых свойств. По основным органолептическим показателям образцы (1) и (2) оказались практически неотличимы от контрольного. Образец (3) охарактеризован как ограниченно годный в пищу из-за ставшего слегка заметным горьковатого запаха у образца в обоих состояниях и такого же привкуса у термически обработанного образца. Образцы (4) и (5) признаны негодными к употреблению из-за наличия резкого неприятного горького запаха и такого же вкуса.

Для мониторинга микробиологических показателей гомогената фарша форели делались последовательные разведения суспензий опытных и контрольных образцов в соотношениях от 1:2 до 1:10000. 0,1 мл суспензии из каждого разведения наносили в чашки Петри на поверхность агаризованной тиогликолевой среды. Чашки содержались при температуре, оптимальной для жизнедеятельности бактерий *Escherichia coli*. По прошествии суток с момента облучения осуществлялся расчет количества жизнеспособных клеток в КОЕ/г. Спустя сутки после облучения количество жизнеспособных бактерий в образцах с гомогенатом форели падает с увеличением поглощенной дозы. При этом показатели образца (1) очень слабо отличаются от контрольного значения, а наиболее резкое падение наблюдается для образца (2) по сравнению с (1). Количество бактерий в образце (1) и в контрольном спустя сутки после облучения превосходит изначальное ( $6,6 \times 10^3$  КОЕ/г) на порядок. В образцах (2)-(5) оно по порядку совпадает с изначальным.

Таким образом, дозы облучения выше 1 кГр невозможно использовать для радиационной обработки свежей охлажденной рыбной продукции, несмотря на их высокую эффективность с точки зрения ингибирования патогенов. Доза в 0,25 кГр не оказывает должного воздействия на патогенные микроорганизмы. Доза в 0,5 кГр обеспечивает достаточно высокую эффективность подавления деятельности бактерий, при этом не вызывая значительных изменений органолептических свойств продукции. Представляется интересным выполнение дальнейших исследований по обработке рыбы и схожей продукции ускоренными пучками электронов с поглощенными дозами из диапазона 0,25–1 кГр для определения оптимальных параметров облучения. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-016-00198а.

### Литература

1. Н.И. Санжарова, Г.В. Козьмин, А.Н. Павлов, В.О. Кобялко, Н.Н. Лой, П.Н. Цыгвинцев. Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности: история, современное состояние и перспективы. Радиационные технологии в

- сельском хозяйстве и пищевой промышленности: состояние и перспективы: Сб. докл. Международной науч-практ. конференции. Обнинск, с. 32–35, 2018.
2. Донскова Л.А., Беляев Н.М. Современные пищевые технологии и их влияние на потребительские свойства мясных продуктов. Новые технологии, № 4. с. 30-36, 2017.
  3. Prakash, S., Kailasam, S., Patterson, J. Effect of radiation on the nutritional and microbial qualities of salted and sun-dried Sharpfin barracuda (*Sphyraena acutipinnis*) (2015) International Journal of Radiation Biology, 91 (7), pp. 540–546.
  4. Авдюхина В.М., Близнюк У.А., Борщеговская П.Ю., Бусленко А.В., Илюшин А.С., Кондратьева Е.Г., Крусанов Г.А., Левин И.С., Сеницын А.П., Студеникин Ф.Р., Черняев А.П. Исследование воздействия рентгеновского излучения на концентрацию восстанавливающих сахаров в картофеле и на его прорастание. Вестник Московского университета. Серия 3: Физика, астрономия. № 3. с. 99–103, 2018.

## КОНФОРМАЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ Na,K-АТФАЗЫ, ВЫЗВАННЫХ СВЯЗЫВАНИЕМ КАРДИОТОНИЧЕСКИХ СТЕРОИДОВ

Локтева В.А.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия*

### Введение

В данной работе изучается связывание белка Na,K-АТФазы с его специфическими ингибиторами – кардиотоническими стероидами. С помощью методов ограниченного трипсинолиза и изотермической калориметрии титрования исследуются проходящие при этом конформационные переходы. Поставлены следующие задачи:

1. Охарактеризовать препарат Na,K-АТФазы почек свиньи, определить активности и белковый состав методом электрофореза в ПААГ.
2. Исследовать набор протеолитических фрагментов, полученных при трипсинолизе комплексов Na,K-АТФаза-уабаин, Na,K-АТФаза-дигоксин, Na,K-АТФаза-маринобуфагенин.
3. С использованием метода ИТС определить константу диссоциации, энтропию и энтальпию полученных белковых комплексов с E2-P конформацией Na,K-АТФазы.

### Литературный обзор

#### 1. Na,K-АТФаза

Na,K-АТФаза — это интегральный мембранный белок, который производит перенос трёх ионов Na во внеклеточное пространство и перенос двух ионов K внутрь клетки, используя энергию гидролиза АТФ. Созданная разность концентраций ионов необходима для генерации возбуждения в мышечных и нервных клетках, транспорта аминокислот, сахаров, низкомолекулярных соединений, поддержания объёма клетки. Na,K-АТФаза встречается во всех животных клетках.

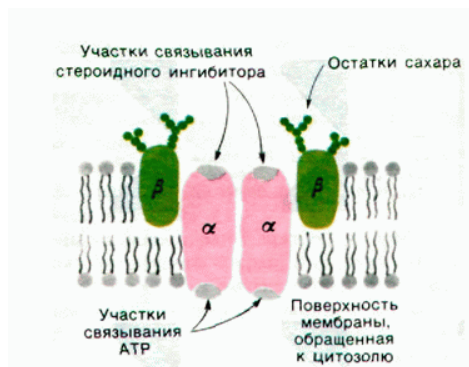


Рис. 1. Структура Na,K-АТФазы

Na,K-АТФаза представляет собой тетрамер  $\alpha_2\beta_2$ , который состоит из двух типов субъединиц (в некоторых случаях наблюдается третий):  $\alpha$ ,  $\beta$ , иногда  $\gamma$ .  $\alpha$ -субъединица — полипептид массой около 100 кДа, который выполняет транспортную и каталитическую функции. Именно  $\alpha$ -субъединица содержит сайты связывания АТФ, трипсина, кардиостероидов.  $\beta$ -субъединица с массой 40–60 кДа представляет собой гликопротеин и выполняет регуляторную функцию, отвечая за сродство Na,K-АТФазы к ионам. Существует три формы  $\beta$ -субъединицы ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$  и  $\beta_3$ ), называемые

изоформами. Изоформы кодируются разными генами и отличаются аминокислотной последовательностью. Сродство Na,K-АТФазы к ионам зависит от изоформы  $\beta$ -субъединицы. Известно также четыре изоформы для  $\alpha$ -субъединицы:  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$ . В зависимости от сочетания изоформ образуются различные изоферменты Na,K-АТФазы, отличающиеся кинетическими свойствами.

В ходе каталитического цикла белок меняет несколько конформационных состояний. Одно из двух основных состояний E1 имеет повышенное сродство к ионам натрия и к АТФ, другое E2 — к ионам калия. В свою очередь каждое из этих двух состояний имеет фосфорилированную форму: E1P, E2P.

В состоянии E1 белок взаимодействует с ионами натрия со стороны цитоплазмы и связывает молекулу АТФ, в результате чего АДФ покидает активный центр и возвращается в цитоплазму, а белок переходит в состояние E1P. В этом состоянии ионы натрия прочно связаны с ферментом. Переход в конформацию E2P ускоряется ионами магния, хотя сайтов связывания магния на ферменте не обнаружено. В новой конформации активный центр оказывается с наружной стороны мембраны и становится более гидрофобным, вследствие чего от него отщепляются ионы натрия, и связываются ионы калия. Фосфатная группа в конформации E2P становится более уязвимой для молекул воды, поэтому происходит гидролиз АТФ, после чего фосфат, а следом за ним ионы калия уходят во внутриклеточную среду. Последней стадией цикла является переход образовавшейся конформации E2 в конформацию E1.

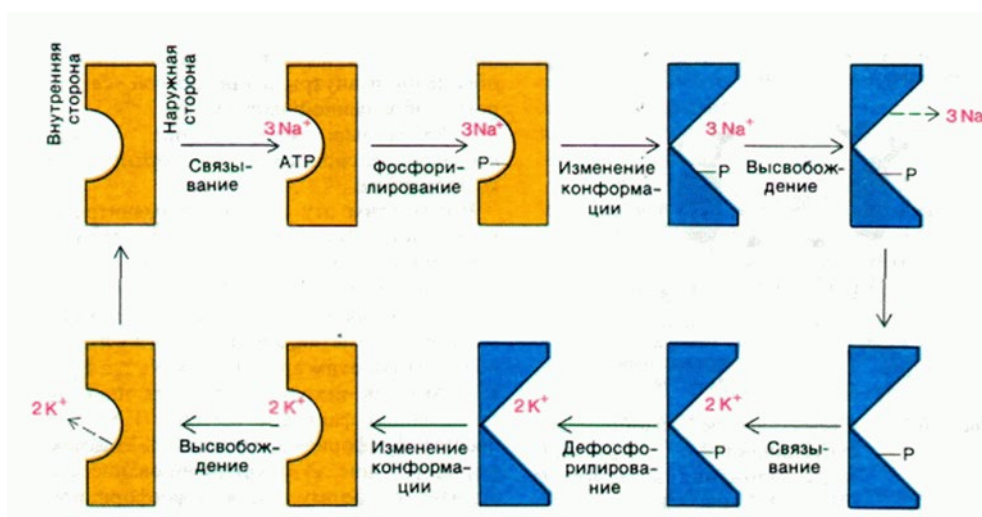


Рис. 2. Каталитический цикл Na,K-АТФазы. Желтым цветом обозначены формы E1, синим — E2.

Одним из способов изучения структуры Na,K-АТФазы является протеолитическое расщепление каталитической субъединицы с помощью фермента поджелудочной железы трипсина.

В различных конформационных состояниях Na,K-АТФаза по-разному расщепляется в ходе трипсинолиза. Так Jorgensen показал, что в конформации E2 производится два разреза со стороны N конца, и от  $\alpha$ -субъединицы отщепляются фрагменты массами 58 кДа и 46 кДа, а в конформации E1 — один фрагмент массой 78 кДа с разрезом в середине полипептида. Однако сайтов взаимодействия с трипсином на поверхности фермента значительно больше, но почти все они недоступны для связывания.

Другой метод изучения структуры — изотермическая калориметрия титрования ИТС. Этот метод позволяет определить ключевые термодинамические характеристики белковых комплексов: константу диссоциации  $K_d$ , энтропию  $S$  и энтальпию  $H$ .

В общих чертах экспериментальная установка представляет собой теплоизолированную оболочку, включающую в себя две ячейки, одна из которых содержит исследу-

емый белок. С помощью вращающегося шприца в неё впрыскивается лиганд. Вторая ячейка, называемая ячейкой сравнения, остается пустой. Температура обеих ячеек поддерживается одинаковой, для чего на них подаётся некоторая мощность. Например, если реакция экзотермическая, то на ячейку сравнения будет подана меньшая мощность, чем на ячейку с образцом. Зная разность мощностей, поданных на ячейки, можно рассчитать тепловой эффект связывания белка с лигандом.

Обозначим буквой  $v$  объём ячейки,  $\Delta[L]$  — увеличение концентрации лиганда после впрыскивания,  $\Delta H$  — энтальпию реакции. Выделившееся или поглотившееся в ходе реакции количество теплоты  $q_i$  будет равно:

$$q_i = v * \Delta H * \Delta[L]$$

Строится график зависимости теплового эффекта реакции от отношения концентрации лиганда к концентрации исследуемого белка. Изменение энтальпии находится из следующего соотношения:

$$\Delta H = \frac{\int_{t=0}^{\infty} \frac{dQ}{dt} dt}{[L]_{t=0} * v}$$

Где  $[L]_{t=0}$  — концентрация лиганда в начальный момент времени.

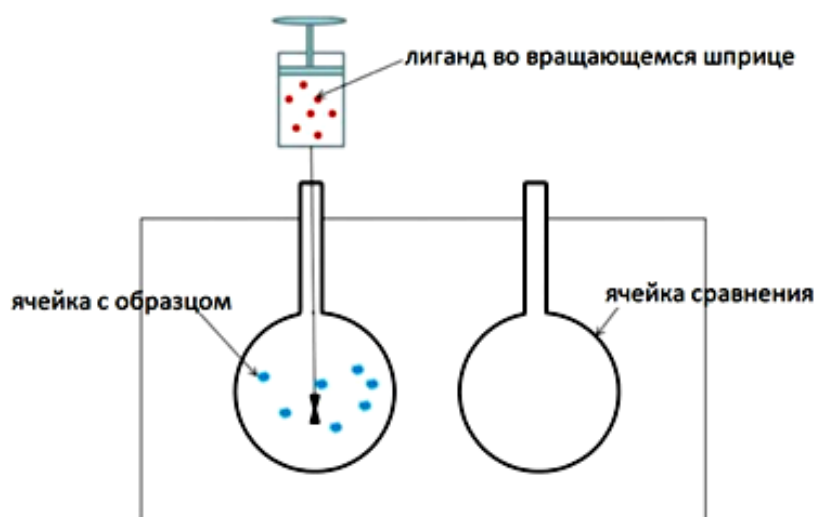


Рис. 3. Экспериментальная установка для метода ИТС

Константа равновесия  $K_a$  определяется следующим соотношением:

$$K_a = \frac{[L] * [P]}{[PL]}$$

Где  $[P]$  — концентрация белка  $[PL]$  – концентрация комплекса белок-лиганд.

## 2. Кардиостероиды (КТС)

Кардиотонические стероиды (известные также, как кардиостероиды, сердечные гликозиды) — специфические ингибиторы Na,K-АТФазы, производные холестерина. К ним относятся растительные токсины убаин (содержится в растении строфант) и ди-госин (наперстянка), а также яд жабы-аги маринобуфагенин. Перечисленные токсины структурно схожи со стероидными соединениями, в малых количествах вырабатываемыми у животных гипоталамусом и надпочечниками для регуляции сердечного ритма.

Как и стероиды в крови животных КТС способны с помощью ингибирования Na,K-АТФазы повышать концентрацию ионов натрия в клетки, активируя этим Na, Са-обменник. Следующее за этим повышение концентрации Са усиливает мышечные сокращения. Помимо этого КТС способны запускать сигнальные каскады при воздействии на рецепторы инозитол-3-фосфата.

### Эксперимент

Na,K-АТФаза была выделена из почек свиньи, концентрация белка была определена по методу Лоури и составила 12,55 мг/мл, после разведения буфером — 0,55 мг/мл.

Na,K-АТФаза в конформациях E1, E2P, E1/E2 преинкубировалась с КТС при температуре 37 °С в течение 5 минут. КТС разводились раствором диметилсульфоксида (ДМСО), необходимым, чтобы гидрофобные дигоксин и маринобуфагенин не выпадали в осадок. Убаин также смешивался с ДМСО, чтобы обеспечить равные условия экспериментов. КТС брались в концентрации 1 мМоль/л.

Для трипсинолиза использовался трипсин из поджелудочной железы быка. Использовались следующие соотношения концентраций Na,K-АТФазы и трипсина: 1:10, 1:15, 1:25 (комплексы с маринобуфагенином подвергались протеолизу намного быстрее, из-за чего пришлось уменьшить концентрацию трипсина). Na,K-АТФаза преинкубировалась с трипсином при температуре 37 °С в течение 5, 10 и 15 минут, затем расщепление прекращалось с помощью ингибитора трипсина из бобов сои, взятого в концентрации, в два раза превышающей концентрацию трипсина.

Для измерения молекулярных масс полученных полипептидных фрагментов использовался метод электрофореза по Лемми в полиакриламидном геле. Использовались 6% концентрирующий и 11% или 12,5% разделяющий гели, электрофорез проводился при силе тока на гель 25 мА и 50 мА для концентрирующего и разделяющего гелей соответственно. Для того, чтобы разделение производилось только по молекулярной массе, не зависимо от формы и заряда фрагмента, использовался додецилсульфат натрия. Додецилсульфат натрия несёт сильный отрицательный заряд, который нивелирует собственные заряды полипептидных фрагментов, а отталкивание этих отрицательных зарядов распремляет белковую глобулу. После разделения гели 5 минут фиксировались в 10% растворе уксусной кислоты, затем отмывались от додецилсульфата натрия дистиллированной водой. Белки окрашивались раствором Кумасси экспресс-методом: гели в ванночке с красителем подогревались до появления первых пузырьков в микроволновой печи, затем 5 минут настаивались. Затем с помощью нагрева в воде гели отмывались от раствора Кумасси, фотографировались и обрабатывались с помощью программы TotalLab.

### Литература

1. Castro, Farley (1978) Proteolytic fragmentation of the catalytic subunit (Na-K)-ATPase. The journal of biological chemistry, Vol. 254, No 7.
2. Winter Tryptic inactivation of the ouabain binding site of canine kidney Na,K-ATPase and its effect on catalytic function. Biophysical and biochemical research com., 474–481.
3. Jorgensen (1975) Purification and characterization of Na,K-ATPase. Conformational changes in the enzyme. Transition between the Na-form and K-form. Studied with tryptic digestion as a tool. Biochimica et biophysica acta, 401 399–415.
4. Jorgensen (1975) Purification and characterization of Na,K-ATPase. Different tryptic modification of catalytic functions of the purified enzyme in presence of NaCl and KCl. Biochimica et biophysica acta, 466 97–108.
5. Страйер Л. Биохимия: В 3-х т. Т.3.
6. Leavitt, Freire (2001) Direct measurement of protein binding energetics by isothermal titration calorimetry. Curr. Opin. Struct. Biol. Vol. 11, 560–566.
7. Болдырев (1998) Na,K-АТФаза — свойства и биологическая роль.
8. Ogawa (2009) Crystal structure of the sodium-potassium pump (Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase) with bound potassium and ouabain.

9. Jelesarov, Bosshard (1999) Isothermal titration calorimetry and differential scanning calorimetry as complementary tools to investigate the energetics of biomolecular recognition.
10. Matsui, Schwartz (1968) Mechanism of cardiac glycoside inhibition of the (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)-dependent ATPase from cardiac tissue. *Biochimica et biophysica acta*, Vol. 151, 655–663.
11. Lopina (2001) Interaction of Na,K-ATPase catalytic subunit with cellular proteins and other endogenous regulators. *Biochemistry (Mosc)* 66(10):1122–31.
12. Mahmmoud (2005) Stabilization of trypsin by association to plasma membranes: implications for tryptic cleavage of membrane-bound Na, K-ATPase. *Biochimica et biophysica acta*, 110–116.
13. Jens G. Norby Coupled Assay of Na, K-ATPase activity.
14. Edwin A. Lewis, Matthew W. Freier (2008) Isothermal titration calorimetry/ *Methods in cell biology*, Vol. 84.
15. John E. Ladbury, Michael L. Doyle *Biocalorimetry* 2.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКИЙ РАСЧЕТ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КИНЕТОХРОННОГО КОМПЛЕКСА NDC80 И МИКРОТРУБОЧКИ

Лопанская Ю.Н.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия*

*Email: lopanskaia.julia@mail.ru*

Во время клеточного деления необходимо с высочайшей точностью распределить удвоенный генетический материал по дочерним клеткам. Главными участниками этого процесса являются тубулиновые микротрубочки и кинетохоры – крупные белковые комплексы на хромосомах, осуществляющие прикрепление хромосом к концам микротрубочек. Ключевую роль в этом прикреплении играет кинетохорный комплекс NDC80, который состоит из четырех белков: Ndc80, Nuf2, Spc24 и Spc25. Инактивация одного из белков, Ndc80, путем специфического связывания антителами приводит к нарушению митоза [1]. Ввиду важности комплекса NDC80 для клеточного деления, ингибирование его функций могло бы быть эффективной стратегией борьбы с пролиферацией клеток опухолей. Для создания такого ингибитора необходимо детальное понимание молекулярных аспектов связывания белков NDC80 и микротрубочек, которое еще не достигнуто. Так, в кристаллической структуре комплекса микротрубочки и NDC80 наблюдается связь только между одним белком комплекса, Ndc80, и микротрубочкой. Но мутации в белке Nuf2 также ослабляют взаимодействие комплекса NDC80 с микротрубочкой, позволяя предположить, что и Nuf2 вносит вклад в связывание с тубулином [2].

С целью пролить свет на эту проблему, мы провели анализ взаимодействия кинетохорного комплекса NDC80 и фрагмента микротрубочки методом полноатомных молекулярно-динамических расчетов с явным растворителем. Нами учитывались не только глобулярные домены белков NDC80 и тубулина, но и их важные для взаимодействия подвижные неструктурированные цепи на N- и C-концах [2]. Результаты наших расчетов показали, что взаимодействие между NDC80 и микротрубочкой происходит между глобулярными и подвижными частями белков. В течение расчета нет прямого контакта Nuf2 с глобулами тубулинов, но есть с C-концевой последовательностью тубулина, что позволяет объяснить причину влияния удаленных от интерфейса взаимодействия точечных мутаций на связывание микротрубочки. Мы надеемся, что данная работа позволит лучше понять молекулярные механизмы взаимодействия кинетохора и микротрубочки, а также поможет поиску эффективного ингибитора комплекса NDC80 для борьбы с пролиферацией раковых клеток. Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычисли-

тельными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова при поддержке гранта РФФИ, проект № 17-74-20152.

### Литература

1. Y. Chen, D. J. Riley, P. L. Chen, и W. H. Lee, «NEC, a novel nuclear protein rich in leucine heptad repeats specifically involved in mitosis.», *Mol. Cell. Biol.*, 1997, т. 17, вып. 10, сс. 6049–6056.
2. C. Ciferri et al., «Implications for Kinetochore-Microtubule Attachment from the Structure of an Engineered Ndc80 Complex», *Cell*, 2008, т. 133, вып. 3, сс. 427–439.

## КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ МЕТОД ОЦЕНКИ ХИРАЛЬНОСТИ В ИЕРАРХИЧНЫХ СТРУКТУРАХ БЕЛКОВ

Луценко А.О., Зуев К.А.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия*

*E-mail: aleksluchrus@yandex.ru, re-qwer@mail.ru*

На основе ранее разработанной феноменологической закономерности, согласно которой, начиная с уровня «левого» асимметричного углерода в аминокислотных остатках первичной структуры белков происходит чередование знака хиральности структурных уровней L-D-L-D («правые»  $\alpha$ -спирали вторичной структуры, перевиваясь, образуют левую суперспираль, четвертичная структура микрофиламентов – «правая») [1, 2], разработан метод количественной оценки степени хиральности в иерархических структурах макромолекулярных систем [3]. Предложенный подход позволяет в общем случае количественно оценить знак и степень хиральности вторичных структур белков. Достаточным условием метода для определения знака хиральности вторичной структуры является выбор взаимного расположения  $\alpha$ -углеродов, что позволяет на один-два порядка снизить количество обрабатываемой информации по сравнению с полным описанием системы. В результате анализа правых и левых спиральных вторичных структур показано, что угол между вектором направления и суммой векторных произведений выявляет направление закрутки спирали. Наряду с правыми  $\alpha$ -спиралями и левыми полипролиновыми спиралями, которые, перевиваясь, образуют правые суперспирали в коллагене, были проанализированы и  $\beta$ -структуры. Данные о пространственной структуре отображаются на картах хиральности, которые демонстрируют наличие обособленных областей существования для различных типов спиральности. Метод реализован в виде компьютерной программы на языке Python 3.6 с использованием библиотеки SciPy.

### Литература

1. Tverdislov V.A., Sidorova A.E., Iakovenko L.V. From symmetries to the laws of evolution. I. Chirality as a means of active media stratification. // *Biophysics*. 2012. 57, N 1. P. 146.
2. Твердислов В.А. Хиральность как первичный переключатель иерархических уровней в молекулярно-биологических системах. // *Биофизика*. 2013. 58, № 1. С. 159.
3. A. E. Sidorova, E. V. Malyshko, A. R. Kotov, N. T. Levashova, M. N. Ustinin, and V. A. Tverdislov. Protein Folding as an Autowave Process of Self-Organization in Active Media. // *Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics*, © Allerton Press, Inc., 2019, Vol. 83, No. 1, pp. 85–90.

РОЛЬ СЕРОВОДОРОДА В РЕГУЛЯЦИИ  
РЕДОКС-СТАТУСА КЛЕТОК БАКТЕРИЙ *E. coli*

Мельникова Е. В.

МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия  
E-mail: lizhhen@gmail.com

Сероводород ( $H_2S$ ) — является важной сигнальной молекулой и в низких концентрациях способен стимулировать работу иммунной и антиоксидантной системы защиты клетки. В клетках бактерий  $H_2S$ , наряду с трипептидом глутатионом и цистеином, является важным компонентом системы антиоксидантной защиты клетки [1]. Эндогенный  $H_2S$  делает бактерии устойчивыми к окислительному стрессу, но механизм его действия до сих пор плохо изучен [2].

В данной работе были охарактеризованы жизнеспособность и редокс-статус бактериальных клеток *E. coli* с измененной генерацией  $H_2S$ . Оценка параметров, характеризующих редокс-статус бактериальных клеток, — уровень внутриклеточных тиолов, уровень активных форм кислорода (АФК) и оксида азота (NO), проводилась с помощью флуоресцентных красителей ThiolTracker Violet, Dihydrorhodamine 123 и DAF-FM DA, соответственно, методом проточной цитометрии. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью пропидий йодида (PI), который проникает в мертвые клетки и связывается с ДНК. Данные параметры оценивали в популяции бактериальных клеток, выделенной по параметрам малоуглового и бокового светорассеяния, характеризующих размер и гранулярность клеток. Кроме того, методом спектрофотометрии с помощью 3,5-динитробензойной кислоты был оценен уровень небелковых тиолов — глутатиона и цистеина. Доля окисленных форм глутатиона и цистеина была оценена после их восстановления с помощью глутатионредуктазы и NADPH.

Установлено, что инактивирующая точечная мутация (C238A) или делеция гена *mstA*, кодирующего фермент 3-MST — 3-меркаптопируватсульфотрансферазу, который катализирует продукцию сероводорода из меркаптопирувата [1], приводит к значительному усилению роста продукции АФК. При этом не наблюдалось изменения уровня тиолов, NO и жизнеспособности клеточной популяции. Делеция гена *aspC*, кодирующего цистеинтрансминазу, катализирующую синтез меркаптопирувата из цистеина, также приводит к повышению АФК, не влияя на уровень тиолов и жизнеспособность клеток. Было обнаружено, что инактивирующая точечная мутация в гене *gmhA*, кодирующем фермент седогептулозу 7-фосфат изомеразу, ответственный за транспорт и синтез липополисахаридов внутреннего бактериального кора [3], или делеция данного гена, приводит к очень существенному увеличению уровня тиолов по сравнению с контролем и сопровождается некоторым возрастанием уровня АФК. При этом происходит резкое возрастание процента гибнущих клеток (~10-15%) в популяции по сравнению с контрольным уровнем (~0.1-0.3%). Оверэкспрессия *gmhA* не влияет на жизнеспособность клеток и на уровень тиолов, однако наблюдается резкое возрастание АФК. При одновременной делеции генов *gmhA* и *mstA* наблюдалось менее выраженное увеличение уровня тиолов и меньшее возрастание процента мертвых клеток по сравнению с одиночной делецией *gmhA*. Для установления причины возрастания внутриклеточных тиолов был создан ряд мутантов *E. coli*, в которых, наряду с делецией *gmhA*, были сделаны делеции генов, кодирующих белки, участвующие в синтезе глутатиона —  $\gamma$ -глутамат-цистеин лигазы (*gshA*) и глутатион синтетазы (*gshB*), синтезе цистеина де ново — ацетиламинотрансферазы (*cysE*) и транскрипционного регулятора генов (*cysB*). В клетках с делецией *gmhA* делеция генов *gshA*, *gshB* и *cysE* приводит к снижению уровня внутриклеточных тиолов по сравнению с контролем, а делеция *cysB*, контролирующего синтез цистеина де ново *cysK*, *cysM* (кроме *cysE*) и его транспорт в клетку (*tcyP*, *tcyJ*), полностью нивелирует эффект возрастания тиолов, вызванный делецией гена *gmhA*.



Однако делеции генов *cysB* и *gshA/B*, снижая уровень тиолов, повышенный вследствие делеции *gmhA*, не предотвращают возрастание АФК и процента мертвых клеток.

Таким образом, наблюдаемое возрастание внутриклеточных тиолов вследствие делеции *gmhA* обусловлено возрастанием внутриклеточного глутатиона и цистеина, сопровождается ростом АФК и возрастанием количества мертвых клеток, а нарушение синтеза и транспорта цистеина в клетку предотвращает возрастание тиолов, но приводит к существенному росту АФК, не снижая процент мертвых клеток. Нарушение синтеза  $H_2S$  приводит к менее выраженному возрастанию тиолов, вызванному *gmhA* и заметному снижению процента мертвых клеток в популяции. Полученные данные свидетельствуют о том, что нарушение работы или делеция *gmhA* существенно изменяет редокс-статус клеток и является критичным для жизнеспособности клеток бактерий.

### Литература

1. Hideo Kimura, Production and Physiological Effects of Hydrogen Sulfide, Antioxidants and Redox Signaling, 2014, 20, 5, pp. 783–793.
2. Alexander Mironov, Tatyana Seregina, Maxim Nagornykh, Lyly G. Luhachack, Natalya Korolkova, Liubov Errais Lopes, Vera Kotova, Gennady Zavlilgelsky, Rustem Shakulov, Konstantin Shatalin, and Evgeny Nudler, Mechanism of  $H_2S$ -mediated protection against Oxidative stress in Escherichia coli, PNAS 2017, 114, 23, pp. 6022–6027.
3. Nicholas R Sandoval and Eleftherios T Papoutsakis Engineering membrane and cell-wall programs for tolerance to toxic chemicals: Beyond solo genes, Current Opinion in Microbiology 2016, 33, pp. 56–66.

## ВЫДЕЛЕНИЕ СИГНАЛА АСПАРТАТА В ПРОТОННЫХ *in vivo* МР-СПЕКТРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Меньщиков П.Е.

*ИХФ им. Н.Н. Семенова РАН, НИИ Неотложной детской хирургии и  
травматологии, Москва, Россия  
E-mail: peeterem@gmail.com*

Магнитно-резонансная спектроскопия (МРС) — уникальный метод прижизненной и неинвазивной количественной оценки внутриклеточных концентраций метаболитов - участников процессов обмена веществ. В силу того, что исследования проводятся на коммерческих томографах с напряженностью постоянного магнитного поля в пределах 3–7 Тл, существенным ограничением метода  $^1H$  МРС являются близкие значения химических сдвигов ( $\delta$ ) сигналов структурных фрагментов, принадлежащих молекулам различных метаболитов. Это приводит к перекрыванию резонансных линий в спектрах  $^1H$  МРС. Наиболее действенным способом решения этой проблемы представляется спектральное редактирование с применением импульсной последовательности (ИП) MEGA-PRESS [1] с помощью добавления в стандартную ИП PRESS двух 180 градусных частотно-селектирующих импульсов (ЧСИ). В основе данной методики которой лежит селективное воздействие на J-эволюцию спинов рассматриваемого метаболита. J-эволюция — динамический процесс изменения состояния возбужденной спиновой системы под действием спин-спинового взаимодействия. В спектрах это проявляется набегом фазы компонент мультиплетных сигналов со временем. В спектрах, полученных путем вычитания спектров с ЧСИ, отличающимися по области воздействия позволило выделять сигналы, таких важных соединений,  $\gamma$ -аминомасляная кислота (GABA), глутатион (GSH), N-ацетил аспартил глутамат (NAAG) [2].

Основной целью данной работы является оптимизация параметров ИП MEGA-PRESS для прямого наблюдения сигнала еще одного важнейшего метаболита — аспартата (L-аспарагиновой кислоты, Asp) [3], выполняющего роль возбуждающего нейро-

медиатора в ЦНС человека, а также являющегося основным предшественником N-ацетиласпартата (NAA). Основными параметрами для оптимизации являются частоты селективных импульсов (определяют “редактируемый” сигнал) и время эхо (TE, определяет интенсивность данного сигнала).

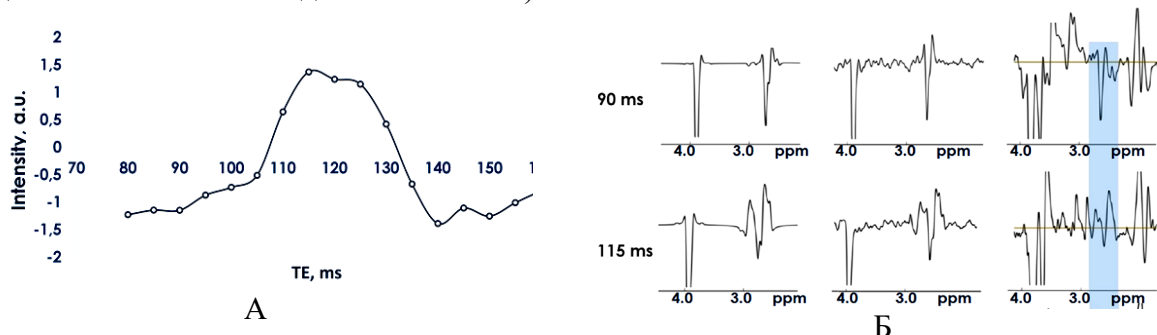


Рис. 1. (А) . Зависимость суммарной интенсивности сигналов Asp ( $\delta_{\text{Asp}}=2.65$  и  $2.80$  м.д.) в результирующем спектре от TE, рассчитанная из модели; (Б) Модельные и экспериментальные спектры MEGA-PRESS для различных TE 90 и 115 мс.

$^1\text{H}$  ЯМР-спектр Asp представляет собой три дублета дублетов с  $\delta = 2.66$  м.д.,  $\delta = 2.80$  м.д. и  $\delta = 3.89$  м.д. В финальной версии частота ON ЧСИ была выбрана, для воздействия на протоны  $\alpha\text{-CH-}$  группы ( $\delta = 3.89$  м.д.). При этом J-эволюции  $J_{13}$  для ядра водорода  $\beta_1$  и  $J_{23}$  для ядра водорода  $\beta_2$  меняют свое направление после воздействия ЧСИ. Частота OFF ЧСИ выбиралась таким образом, чтобы не оказывать влияние на компоненты молекулы Asp, а также других метаболитов (область спектра с  $\delta = 5.21$  м.д.). При такой схеме воздействия отредактированный спектр должен содержать непокрытый сигнал Asp от неэквивалентных протонов с  $\delta = 2.80$  м.д. и  $\delta = 2.65$  м.д. Определение TE, при котором интенсивность этого сигнала является максимальной, осуществлялось с помощью квантово-механического моделирования, результат которого показан на рис. 1А.

В итоге было выбрано 4 оптимальных времени TE — 90, 115, 140 и 150 мс. Экспериментальное подтверждение проводилось как на специально изготовленных фантомах, так и *in vivo*. Спектры MEGA-PRESS с TE (90, 115, 140, 150 мс), регистрировались в фантоме, содержащем водный раствор ( $\text{pH} = 7.2$ ,  $T = 36\text{--}37^\circ\text{C}$ ) Asp и креатина в концентрациях 3 мМ/л и 10 мМ/л. В клинической апробации методики принимало участие 13 здоровых испытуемых. У 8 добровольцев, помимо получения диагностических изображений, протокол исследования включал в себя регистрацию двух AspMEGA-PRESS спектров с TE = 90 и 115 мс из VOI размерами  $50 \times 25 \times 25$  мм, локализованных в лобной доле головного мозга. Для 5 других волонтеров из VOI того же размера и в той же локализации регистрировали MEGA-PRESS спектры с TE = 140 и 150 мс.

Анализ полученных данных показал, что в MEGA-PRESS спектрах для сигнала Asp наблюдается отличное соответствие между смоделированными сигналами и данными, полученными экспериментально, что является прямым подтверждением корректности построенной модели и определяет точность выбора оптимальных TE. Практика обработки спектров с различными TE показала, что для клинических исследований лучшим вариантом является TE = 90 и 115 мс., поскольку обработка спектров *in vivo* в этих случаях существенно легче и возможна даже для широких резонансных линий (рис. 2Б).

Новый метод  $^{\text{Asp}}$ MEGA-PRESS позволил впервые выделить в спектрах *in vivo* головного мозга сигнал молекулы Asp. Asp является основными предшественниками синтеза NAA, снижение церебральной концентраций которого наблюдается в подавляющем большинстве патологических состояний центральной нервной системы. Механизмы, вызывающие падение NAA, до сих пор неизвестны. А одновременное измерение концентрации, Asp и NAA *in vivo* — важный шаг на пути решения этой задачи.

**Литература**

1. Mescher M. Merkle H., Simultaneous in vivo spectral editing and water suppression // *NMR Biomed.* 1998. № 11. P. 266–272.
2. Mullins P. David J. McGonigle Current practice in the use of MEGA-PRESS spectroscopy for the detection of GABA // *NeuroImage* 2013. № 86. P. 43–52.
3. Govindaraju V. Young K., Maudsley A. Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites // *NMR Biomed* 2000. № 13. P. 129–153.

**ЦИТОСКЕЛЕТ КАК ИНСТРУМЕНТ РЕАЛИЗАЦИИ  
ХИРАЛЬНЫХ СООТВЕТСТВИЙ В КЛЕТКЕ**

Муртазина А.Р., Малышко Е.В.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия*  
*E-mail: murtazina.alina@physics.msu.ru*

Настоящая работа содержит развитие новой гипотезы о роли хиральности как инструмента структурообразования на молекулярном и надмолекулярном уровнях в живой природе, а также в неживой природе [1, 2]. Во внутримолекулярных уровнях белков и нуклеиновых кислот была выявлена и описана определённая закономерность. Отмечено чередование знака хиральности D–L–D–L при переходе на более высокий уровень структурно-функциональной организации ДНК для наиболее распространённой В-формы. Последовательность смены знака хиральности в структурно-функциональной иерархии белковых структур подобна той, что мы наблюдаем для ДНК: L–D–L–D. В данной работе внимание сфокусировано на переходе от макромолекул к надмолекулярным структурам (элементам цитоскелета внутри живой клетки — микрофиламентам, промежуточным филаментам и микротрубочкам). Высказывается гипотеза о том, что периодичность хиральных структур и взаимодействий во внутримолекулярных структурах распространяется на надмолекулярный уровень, уровень цитоскелета.

Микрофиламенты — наиболее тонкие элементы цитоскелета диаметром 5–7 нм. Микрофиламент состоит из двух цепочек глобулярного G-актина. Каждая из двух цепочек представляет собой левозакрученную спираль [3, 4], и такие две цепочки свиваются друг с другом правым образом [5]. Как известно, микрофиламенты направлены на взаимодействие с мембраной клетки. А мембрана состоит из левых липидов. Таким образом проявляется высказанная ранее гипотеза о взаимодействии структур разных знаков хиральности.

Промежуточные филаменты — средние по диаметру (10–11 нм) представители цитоскелета. Они несколько выделяются по сравнению с микрофиламентами и микротрубочками своей разнородностью. Так, существует порядка 10 различных белков, образующих тканеспецифичные промежуточные филаменты. Их строение сходно: отдельные полипептидные цепочки иерархично свиваются в канатоподобный филамент.

Микротрубочки являются самым большим в диаметре (24 нм) филаментом цитоскелета. Они преимущественно состоят из 13 параллельных протофиламентов (линейных цепочек димеров тубулина), которые в целом образуют левозакрученную спираль.

Представленный анализ позволяет считать, что периодическая система хиральных взаимодействий распространяется с молекулярного на клеточный уровень.

**Литература**

1. Твердислов В. А. Хиральность как первичный переключатель иерархических уровней в молекулярно-биологических системах // *Биофизика.* – 2013. Т. 58. №. 1. С. 159–164.
2. Твердислов В. А. и др. Периодическая система хиральных структур в молекулярной биологии // *Биофизика.* 2017. Т. 62. №. 3. С. 421–434.

3. Milligan R. A., Whittaker M., Safer D. Molecular structure of F-actin and location of surface binding sites //Nature. 1990. Т. 348. №. 6298. С. 217.
4. Dominguez R., Holmes K. C. Actin structure and function. – 2011.
5. Hanson J., Lowy J. The structure of F-actin and of actin filaments isolated from muscle //Journal of molecular biology. 1963. Т. 6. №. 1. С. 46–IN5.

## РАЗРАБОТКА МЕТОДА ТАКСОНОМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ФИТОПЛАНКТОНА, ОСНОВАННОГО НА РЕГИСТРАЦИИ СИГНАЛА ПЕРЕМЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ПРИ МУЛЬТИСПЕКТРАЛЬНОМ ВОЗБУЖДЕНИИ

Никонова Е.Э.<sup>1</sup>, Тихонова Т.Н.<sup>2</sup>, Давыдов Д.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, <sup>2</sup>МЛЦ МГУ,  
Москва, Россия

E-mail: nikonova87@yandex.ru

Клетки фитопланктона, принадлежащие к различным таксономическим группам, характеризуются набором пигментов, отличных по своим оптическим свойствам [1]. Светособирающие пигменты входят в состав антенных комплексов клеток, и служат для поглощения света в широком спектральном диапазоне. Поглощенная световая энергия передается молекулам хлорофилла-*a*, а от них — акцептору фотосистемы, что сопровождается излучением флуоресценции. Таким образом, исследуя флуоресцентный отклик на мультиспектральное возбуждение можно сделать вывод о пигментном составе образца, что позволяет перейти к его таксономическому анализу [2].

В работе исследуются возможности метода FRe (индукции и релаксации флуоресценции) основанного на регистрации флуоресцентного отклика фитопланктона, при возбуждении короткими интенсивными вспышками света. Данный прибор позволяет получать информацию о физиологическом состоянии клеток фитопланктона, а также параметры, характеризующие его, такие как: квантовый выход фотохимии фотосистемы II, функциональное сечение поглощения ФСII, коэффициенты фотохимического и нефотохимического тушения [3]. Нами была использована мультиспектральная версия данного прибора с 6 длинами волн возбуждения, позволяющая возбуждать различные группы пигментов.

Мы представляем алгоритм определения таксономической группы фитопланктона, основанный на лабораторных исследованиях представителей пяти основных групп: зеленых водорослей, диатомовых водорослей, динофлагеллятов, примнесиофитов и синезеленых водорослей (цианобактерий). Были измерены спектральные зависимости эффективного сечения разделения зарядов в ФСII и квантового выхода фотохимии ФСII при шести длинах волн возбуждения. Затем были построены спектральные зависимости, характеризующие каждую таксономическую группу. После чего экспериментальные зависимости были разложены на основные спектры таксономических групп, что позволило определить таксономическую принадлежность образца. Модельные эксперименты были выполнены с набором из 25 культур в широком диапазоне стрессовых условий (адаптации к интенсивному облучению и условиям пониженного содержания питательных веществ), чтобы имитировать возможные изменения физиологии фитопланктона в естественных условиях и соответствующие им изменения спектральных зависимостей. Разработанный метод сравнивался с общепринятым подходом, основанным на разложении спектров возбуждения флуоресценции. Алгоритм анализа был верифицирован на данных полевой экспедиции.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-35-00643 мол\_a

### Литература

1. Irigoien X. et al. Using HPLC pigment analysis to investigate phytoplankton taxonomy: the importance of knowing your species //Helgoland Marine Research. 2004. Т. 58. №. 2. С. 77.
2. Kaitala S. et al. Fluorescent analysis of pigment composition of natural phytoplankton //Marine Technology Society. Marine Technology Society Journal. 1994. Т. 28. №. 3. С. 50–58.
3. Gorbunov M. Y., Falkowski P. G. Fluorescence induction and relaxation (FIRE) technique and instrumentation for monitoring photosynthetic processes and primary production in aquatic ecosystems //Photosynthesis: Fundamental Aspects to Global Perspectives?—Proc. 13th International Congress of Photosynthesis, Montreal, Aug. 2004. С. 1029–1031.

## МОДЕЛИРОВАНИЕ БЕЛОК-ЛИПИДНЫХ КОМПЛЕКСОВ РОТОРОВ АТФ-СИНТАЗ ИЗ *bacillus pseudofirmus*, *spinacia oleracea* И *enterococcus hirae*

Новицкая О.С., Буслаев П.И., Гущин И.Ю.

МФТИ, факультет общей и прикладной физики, г. Долгопрудный, Россия  
E-mail: ivan.gushchin@phystech.edu

АТФ-синтаза является крупным мультибелковым ферментативным комплексом, позволяющим осуществлять синтез молекул АТФ посредством действия протондвижущей силы [1]. Данный комплекс был обнаружен во всех царствах живых организмов, в частности, в клеточных мембранах бактерий, в митохондриях, а также в хлоропластах эукариот. Как правило, он образован двумя субъединицами, одна из которых находится в растворе, а вторая встроена в липидный бислой. Мембранная часть содержит роторное *c*-кольцо, образованное 8–15 *c*-субъединицами. Во время процесса синтеза молекул АТФ осуществляется вращение *c*-кольца в липидном окружении [2]. Несмотря на давний интерес к АТФ-синтазе, только недавно были получены атомные структуры высокого разрешения отдельных *c*-колец и всего комплекса. Однако положения липидов внутри *c*-колец слабо различимы.

В данной работе нами был рассмотрен процесс сборки *c*-колец в липидном бислое методом молекулярной динамики. Для ускорения расчетов было использовано крупнозернистое силовое поле Мартини. Моделирование было проведено для *c*<sub>13</sub>-кольца из *Bacillus pseudofirmus*, *c*<sub>14</sub>-кольца из *Spinacia oleracea* и *K*<sub>10</sub>-кольца АТФ-синтазы типа V из организма *Enterococcus hirae*. Рассматриваемые кольца отличаются между собой размерами, количеством субъединиц (13, 14 и 10), а также количеством трансмембранных спиралей (26, 28, 40 соответственно). Мембрана была образована молекулами РОРС. По завершении сборки были получены белок-липидные комплексы *c*<sub>13</sub>, *c*<sub>14</sub> и *K*<sub>10</sub>-колец, внутри которых наблюдаются 17, 23–26 и более 40 липидных молекул соответственно. Для *c*<sub>14</sub>-кольца было проведено несколько серий сборки, длительностью до 2000 нс, по результатам которых был отобран белок-липидный комплекс с наименьшим отклонением от экспериментальной структуры. В полноатомном моделировании структура комплекса оставалась стабильной в течение долгого времени. Полученные положения липидов хорошо соответствуют экспериментальным электронным плотностям.

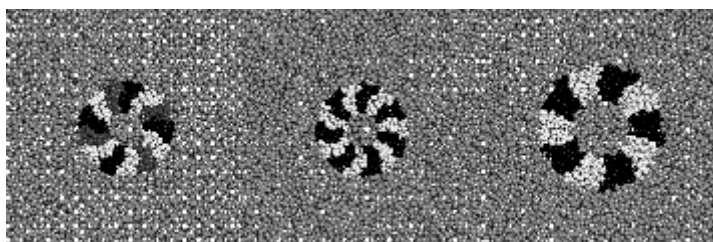


Рис. 1. Собранные крупнозернистые структуры комплексов *c*<sub>13</sub>, *c*<sub>14</sub> и *K*<sub>10</sub>-колец (слева направо).

### Литература

1. Walker J.E. The ATP synthase: the understood, the uncertain and the unknown // *Biochem. Soc. Trans.* том 41, номер 1, год 2013, стр. 1–16
2. Kühlbrandt W., Davies K.M. Rotary ATPases: A New Twist to an Ancient Machine // *Trends Biochem. Sci.* том 41, номер 1, год 2016, стр. 106–116

## ВОЗДЕЙСТВИЕ РАДИОНУКЛИДА ТРИТИЯ НА ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ БАКТЕРИИ

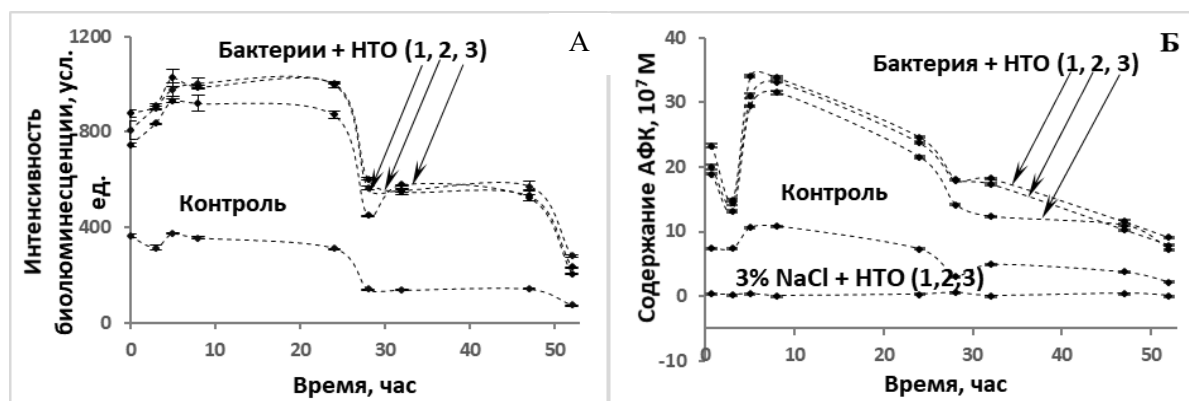
Ноговицына Е.И.

*СФУ, Институт биофизики СО РАН, Красноярск, Россия*

*Email: n.dynia@inbox.ru*

Рост загрязнения окружающей среды техногенными радионуклидами ставит перед исследователями новую задачу — изучение механизмов воздействия низкодозового облучения на организмы. Радиоактивный изотоп водорода тритий является одним из самых распространенных продуктов распада радиоизотопов, использующихся в ядерной промышленности. Известно, радиолит водных растворов, содержащих растворенный молекулярный кислород, может изменять содержание и состав активных форм кислорода (АФК) как непосредственно в водных аэрированных растворах, так и в результате более сложных процессов воздействия на водные организмы. Варьирование содержания АФК может оказывать влияние на все водные организмы, активируя или ингибируя их физиологические функции.

Целью работы является определение содержания АФК при хроническом воздействии трития на морские люминесцентные бактерии. В качестве источника трития использовали тритиевую воду. В качестве физиологической функции бактерий использовали интенсивность биолюминесценции бактерий. Для определения содержания АФК использовали хемилюминесцентный люминольный метод, который широко используется для определения содержания пероксидов. Интенсивность хемилюминесценции и биолюминесценции бактерий контрольных (нерадиоактивных) и радиоактивных (в присутствии трития удельной радиоактивности 0,03 МБк/л, 4 МБк/л и 500 МБк/л) суспензий бактерий регистрировали с помощью люминометра Luminoskan Ascent. Максимальная доза, накопленная бактериями в условиях эксперимента, составляла 0,04 Гр при мощности  $3 \cdot 10^{-5}$  Гр/мин, что не превышает условного предела низких доз и соответствует низкоинтенсивному излучению. Кинетики биолюминесценции и содержания АФК представлены на рисунке.



Зависимости интенсивности биолюминесценции бактерий (А) и концентрации пероксидов (А) от времени хронического воздействия трития на бактериальную суспензию. Удельные активности в бактериальных суспензиях: 1 — 0,03 МБк/л; 2 — 4 МБк/л; 3 — 500 МБк/л

Показано, что хроническое воздействие трития активирует биолюминесценцию бактерий по сравнению с контрольным образцом приблизительно в три раза (рис. А). Хемилюминесцентный метод выявил увеличение содержания пероксидов в бактериальной суспензиях также приблизительно в три раза (рис. Б). Не наблюдали зависимости интенсивности биолюминесценции бактерий (рис. А) и содержания пероксидов (рис. Б) от удельной радиоактивности растворов в условиях низкодозовой нагрузки (кривые 1, 2, 3 практически совпали).

Можно утверждать, что АФК связаны с адаптивной реакцией бактерий на воздействие трития. Вероятно, увеличение содержания АФК бактериальных суспензиях — свидетельство интенсификации метаболических процессов в бактериальных суспензиях в условиях низкодозовой радиационной нагрузки.

## ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АКТИВАЦИИ ИНТЕГРИНОВ ТРОМБОЦИТА СДВИГОВЫМ ПОТОКОМ

Плетенев И.А.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия*

*E-mail: pletenev@physics.msu.ru*

Адгезия живых клеток к поверхности может обеспечиваться различными механизмами. В условиях живого организма адгезия клеток является обратимой и обеспечивается ассоциацией трансмембранных белков-рецепторов клеток с белками поверхности. При этом внутрь клетки идет сигнал об «успешной» ассоциации и клетка изменяет свое состояние (чаще всего, форму) в соответствии с интенсивностью сигнала. Клетки крови тромбоциты обладают способностью к слабому связыванию с поверхностью, покрытой белком фактором Виллебранда. [1] При наличии потока жидкости, толкающего тромбоциты, эта связь недостаточна для прочной адгезии и тромбоциты «проскальзывают» или «катятся» по поверхности [2]. Ранее в экспериментах было получено, что при высоких скоростях сдвига происходит зависящее от активации адгезионных белков-интегринов замедление этого качения тромбоцитов. Белки-интегрины требуют внутриклеточного сигнала для «срабатывания», следовательно, в качении тромбоцитов по фактору Виллебранда задействована внутриклеточная сигнализация.

Цель работы — определение механизма активации тромбоцитарных интегрин при качении по фактору Виллебранда при высоких скоростях сдвига.

В работе проводится построение стохастической гомогенной компьютерной модели внутриклеточной сигнализации, вызываемой активацией белка-рецептора к фактору Виллебранда гликопротеина Ib (GPIb) и приводящей к активации основного тромбоцитарного интегрин — гликопротеина IIb-IIIa ( $\alpha\text{IIb}\beta_3$ ). Построенная компьютерная модель активации интегрин фокусируется на активации малой GTP-азы Rap1 в каскаде внутриклеточной сигнализации. Валидация модели проводится на экспериментальных данных, полученных методами проточной цитометрии и микроскопии дифференциального интерференционного контраста. Построенная модель подтверждает возможность активации интегрин при условии зависимой от механических напряжений в плазматической мембране активации тирозин-киназ. В результате работы теоретически предсказана зависимость степени активации тромбоцитарных интегрин от скорости сдвига.

### Литература

1. Sadler JE. // *Ann Rev Biochem* том 67, 1998. p. 395–424.
2. Savage B, Saldívar E, Ruggeri ZM. // *Cell* том 84, 1996. p. 289–297.

**ВОЗДЕЙСТВИЕ ПОСТОЯННЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ  
РАЗЛИЧНОЙ НАПРЯЖЁННОСТИ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ  
МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА  
И Т-ЛИМФОБЛАСТОВ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ *Jurkat***

Пшеничников С.Е., Шунькин Е.О., Малащенко В.В., Омельянчик А.С.

*БФУ им. И. Канта, Калининград, Россия*  
*SPshnikov@gmail.com*

Постоянные магнитные поля различной напряжённости широко используются в биомедицинских приложениях. При этом особенности биологических структур определяют характер взаимодействий с магнитными полями. Например, магнитное поле напряжённостью 4.75 Т значительно ингибирует пролиферацию клеток *Jurkat*, но не оказывает влияния на нормальные лимфоциты [2]. Таким образом, изучение влияния магнитных полей на отдельные клеточные линии является важной задачей в разработке биомедицинских приложений.

В данном исследовании использованы две экспериментальные группы клеток: мононуклеарные клетки периферической крови человека (МНК) и клеточная линия Т-лимфобластного лейкоза человека (*Jurkat*). Источником МНК для исследования послужила гепаринизированная венозная кровь условно здоровых доноров. МНК выделяли с помощью градиентного центрифугирования на фиколле (Ficoll-Paque™ Premium, GE Healthcare). В эксперименте использовалась клеточная линия *Jurkat* (Российской коллекции клеточных культур позвоночных Института цитологии РАН, Санкт-Петербург). Подсчет клеточной жизнеспособности осуществлялся с помощью автоматического счётчика клеток Countess Automated Cell Counter (Invitrogen, USA) с использованием красителя трипанового синего (Trypan Blue, Invitrogen, USA). Для культивирования клеток использовалась питательная среда RPMI-1640 (Sigma, USA), содержащая 10% фетальной бычьей сыворотки (Fetal Bovine Serum, Sigma, USA) и 0.3 мг/мл L-Глютамина (L-glutamine, Sigma, USA).

Для определения воздействия на клеточные линии магнитных полей низкой напряжённости использовались три вида магнитов диаметром 10 мм и толщиной 3, 5 и 10 мм (с напряженностью поля на поверхности магнитов 0.30 Т, 0.35 Т, 0.41 Т соответственно). Клеточные линии культивировались в 24-луночных планшетах в концентрации  $5 \times 10^5$  кл/мл. Постоянные магниты располагались непосредственно под лунками планшета. После чего планшеты с магнитами переносились на 24 часа в инкубатор (5% CO<sub>2</sub>, 37°C). Дополнительно, контрольная группа клеток культивировалась в аналогичных условиях без источников магнитного поля.

Для изучения влияния магнитного поля высокой напряженности использовался источник магнитного поля на основе принципа дипольной Хальбах-структуры (AMT&CLLC), изображённый на рисунке 1.

Клеточную суспензию со средой помещали в плотно закрытые культуральные пробирки (питательная среда заранее насыщалась CO<sub>2</sub> и прогревалась в инкубаторе) и переносили в рабочее пространство установки с однородным магнитным полем. Напряжённость магнитного поля составляла 1.8 Т (размеры области магнитного поля с неоднородностью не более 0,5 % составляли 13 мм в диаметре и 16 мм в длину), время эксперимента составляло 4 часа. Контрольные группы клеток в эксперименте культивиро-

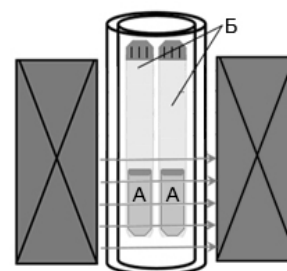


Рис. 1. Схема магнитной установки на основе принципа дипольной Хальбах-структуры (AMT&CLLC) для определения воздействия магнитного поля на клеточные культуры: А — клеточная суспензия, В — культуральные пробирки. Стрелками указано направление вектора магнитной индукции.



вались в инкубаторе, на время переноса экспериментальных групп клеток в рабочее пространство установки. Оценивалась дополнительная контрольная группа клеток, находящаяся в плотно закрытых культуральных пробирках, вне источников магнитного поля и вне инкубатора.

Анализ жизнеспособности клеток проводился методом проточной цитометрии (BD Accuri C6 Flow Cytometer System, BD Biosciences, USA) с использованием красителя пропидиум йодида (Propidium Iodide, Invitrogen, USA). Для оценки морфологии клеток и уровня конфлюэнтности использовался микроскоп Olympus IX51 S8F («Olympus Corporation», Philippines).

Рисунок 2 показывает количество жизнеспособных клеток в двух экспериментальных группах — после 24 часов экспозиции в постоянном магнитном поле низкой напряжённости и после 4 часов экспозиции в постоянном магнитном поле высокой напряжённости. Эксперимент проведен в трёхкратной повторности.

Представлены усредненные нормализованные значения по отношению к контрольным группам серий эксперимента. Статистический анализ проведен с помощью двухфакторного дисперсионного анализа (two-way Anova, Prism 7, GraphPad Software).

Результаты эксперимента показывают, что постоянное магнитное поле с напряжённостями 0.30 Т, 0.35 Т, 0.41 Т (со временем экспозиции клеток 24 часа), а также постоянное магнитное поле напряжённостью 1.8Т (со временем экспозиции клеток 4 часа), не оказали цитотоксического воздействия на клеточные линии МНК и Jurkat. Количество жизнеспособных клеток экспериментальных и контрольных групп не обладает статически значимой разницей. Отсутствие острого цитотоксического воздействия магнитных полей исследованных напряжённостей, делает возможным их использование совместно с наноматериалами в биомедицине [1], а также в качестве терапевтического инструмента.

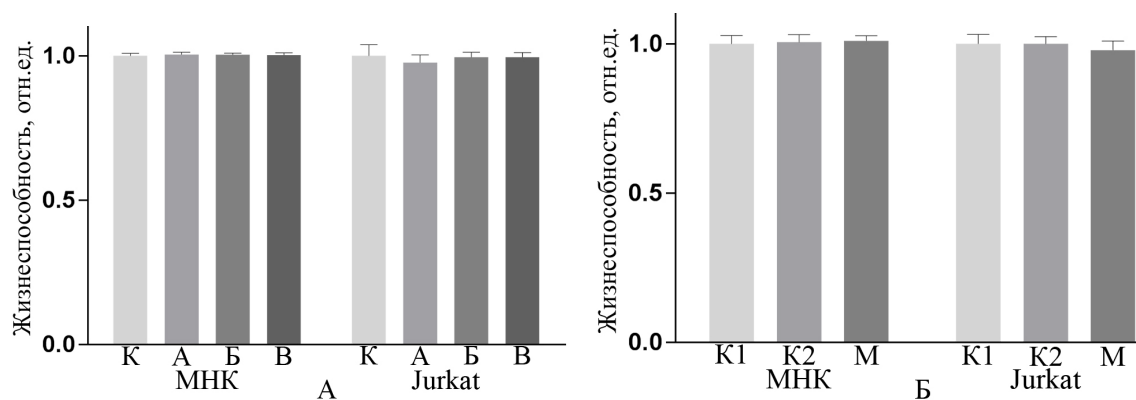


Рис. 2. Жизнеспособность МНК и клеточной линии Jurkat после 24 часовой экспозиции в постоянном магнитном поле низкой напряжённости (А) и 4 часовой экспозиции в магнитном поле высокой напряжённости (Б): К — контрольные группы клеток; А, Б, В — экспериментальные группы клеток (под воздействием магнитного поля с напряжённостью 0.30 Т, 0.35 Т и 0.41 Т соответственно); К1 — контрольные группы клеток инкубируемых в культуральных пробирках; К2 — дополнительный контроль эксперимента; М — экспериментальные клетки в магнитном поле напряжённостью 1.8 Т.

## Литература

1. Barreto J. A. et al. Nanomaterials: applications in cancer imaging and therapy //Advanced materials. 2011. Т. 23. №. 12. С. Н18–Н40.
2. Zhang L. et al. Cell type-and density-dependent effect of 1 T static magnetic field on cell proliferation //Oncotarget. 2017. Т. 8. №. 8. С. 13126.

РАЗРАБОТКА ИЗМЕРИТЕЛЬНОГО УСТРОЙСТВА  
ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ТЕПЛОВЫХ ПРОЦЕССОВ  
ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

<sup>1</sup>Резник В.С., <sup>1</sup>Круглов В.А., <sup>2</sup>Петров А.И.

<sup>1</sup>С-Пб ПУ Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>ФГБУН ИАП РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: vlreznik97@gmail.com

В настоящее время активное распространение в медицине, науке и здравоохранении получили приборы, основанные на полимеразной цепной реакции (ПЦР). Этот процесс тесно связан с изменением температуры реакционной смеси, помещенной в пробирку. Поэтому для реализации ПЦР необходимо иметь точное представление об изменении температуры содержимого пробирки. [3]

Приборы на основе ПЦР имеют возможность получать температуру амплификатора (прецизионного термостата) [1], представленные на рис. 1. Данная температура характеризует состояние наружной стенки пробирки, что не позволяет сделать выводы о температуре смеси внутри пробирки. Это потребовало уточнения результатов с использованием измерительного устройства, характеристики которого позволяют производить измерения температуры в исследуемой среде.

Для этого требуется измерительное устройство, отвечающее определенным параметрам: размер датчика температуры не должен превышать габаритов пробирки с реакционной смесью, которые составляют 21 мм в высоту и 6 мм в диаметре, измерение температуры должно быть реализовано с точностью до 0,01 К, разрешение по времени должно составлять 0,01 секунды. При попытке найти измерительное устройство, соответствующее заданным параметрам было обнаружено, что подобные устройства или их аналоги отсутствуют. [2]

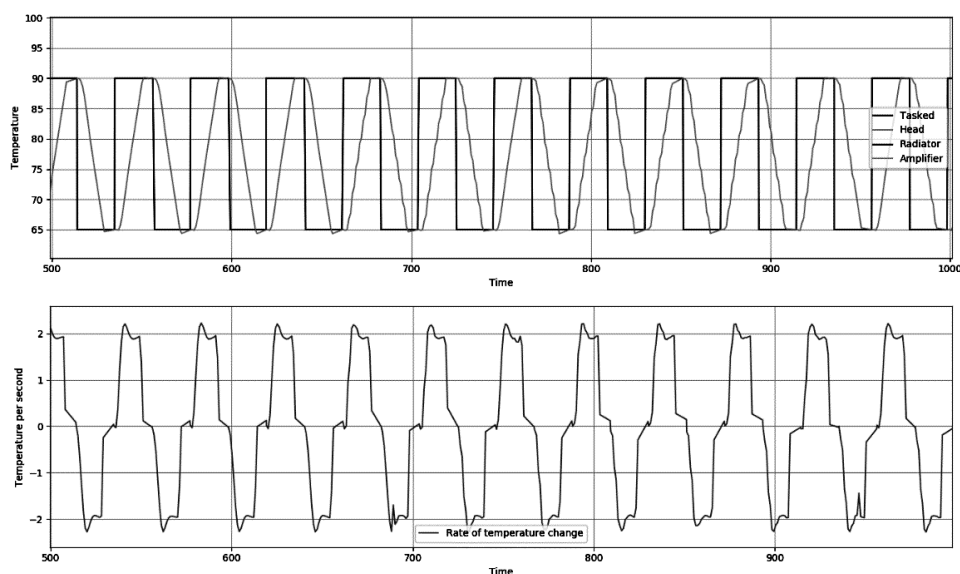


Рис. 1 Данные полученные с прибора АНК-32

С этой целью была поставлена задача разработки измерительного устройства с заданными параметрами, а также визуализации получаемых с него данных. В качестве датчика температуры было решено использовать терморезистор Pt-1000, так как его параметры удовлетворяли требуемым габаритам. Был разработан прототип данного устройства, измерительной схемой которого выступает резистивный делитель напряжения. Математическая обработка полученной информации производилась микро-

контроллером семейства Atmega, визуализация информации была реализована посредством программы написанной на языке программирования Python. Точность прототипа составила 0,08 К. Основным ограничением в достижении заданных параметров выступила низкая разрядность используемого аналого-цифрового преобразователя (10 бит).

В качестве инженерного решения было предложено использовать внешний АЦП AD7714, под управлением микроконтроллера STM32F303VCT6 посредством SPI. Основным преимуществом разработанного решения является использование двух каналов АЦП. На первый канал поступают данные о напряжении на терморезисторе, второй канал необходим для получения напряжения на прецизионном резисторе с температурным коэффициентом сопротивления близким к нулю. Данные из второго канала АЦП позволяют получить величину тока в делителе с высокой точностью, а, следовательно, определить точные значения сопротивления терморезистора в каждый момент времени. Передача данных с микроконтроллера реализована посредством UART. Далее информация поступает в обработчик данных, написанный на Python, визуализирующий температурные характеристики.

Разрабатываемое измерительное устройство позволит получить температурные характеристики переходных процессов реакционной смеси в пробирке с заданной точностью, что позволит оптимизировать работу устройств на основе ПЦР.

### Литература

1. Алексеев Я.И., Белов Ю.В., Варламов Д.А., Коновалов С.В., Курочкин В.Е., Маракушин Н.Ф., Петров А.И., Петряков А.О., Румянцев Д.А., Скоблилов Е.Ю., Соколов В.Н., Фесенко В.А., Чернышев А.В. Приборы для диагностики биологических объектов на основе метода полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ). // Научное приборостроение, 2006, том 16, № 3, с. 132–136.
2. Антонова О.С., Рудницкая Г.Е., Тупик А.Н., Буляница А.Л., Евстапов А.А., Курочкин В.Е. Полимеразная цепная реакция: приборная и методическая реализация. Обзор аналитических характеристик. // Научн. приборостроение, 2011, том 21, № 4, с. 5–21.
3. Белов Ю.В., Петров А.И., Лавров В.В., Курочкин В.Е. Особенности количественных измерений содержания нуклеиновых кислот методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. // Научное приборостроение, 2011, том 21, № 1, с. 44–49.
4. Datasheet RM0316 © STMicroelectronics <https://www.st.com/>
5. Datasheet AD7714 © Analog Devices <https://www.analog.com/>

## МЕХАНИЗМЫ ИОННОГО ГОМЕОСТАЗА ТРОМБОЦИТА

Рогатых Д.А.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия*  
*E-mail: Denrogatykh@gmail.com*

Любая живая клетка содержит разнообразные ионы (в первую очередь,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  и т.п.), концентрация которых внутри, в цитоплазме, клетки и снаружи существенно отличаются. Поддержание разности концентраций осуществляется электрохимическими методами (создание противоположно направленного градиента других ионов того же заряда, или создание разности электрического потенциала на мембране клетки). При изменении общей концентрации ионов и низкомолекулярных веществ внутри клетки происходит изменение ее осмолярности, что ведет к изменению объема клетки [1]. Ионы могут проходить непосредственно через мембрану, через специальные каналы или переходить с помощью специальных транспортных белков (пассивный транспорт) или через помпы (активный транспорт). Разность потенциалов на мембране регулируется в основном токами ионов натрия и калия. Для безъядерной клетки крови тромбоцита при контакте с поврежденными тканями организма происходит активация, опосредуемая повышением концентрации ионов кальция в цитозоле,

при этом ионы кальция могут входить через рецептор-зависимые, механо-чувствительные и потенциал-зависимые каналы во внешней мембране [2].

Целью настоящей работы было построение и исследование математической модели ионного обмена через плазматическую мембрану тромбоцита, учитывающую разность электрических потенциалов на мембране. В модели учитывались следующие потоки ионов через мембрану: калия, натрия, хлора. Объем тромбоцита рассчитывался исходя из концентраций ионов в растворе и цитозоле. Математическая модель представляет собой систему из трех обыкновенных дифференциальных уравнений и интегрировалась методом VODE в пакете PyDSTool.

В результате работы было показано, что стационарное состояние у тромбоцита в состоянии, близком к физиологическому, всегда одно. Стационарный потенциал на мембране зависит от проницаемости мембраны для различных ионов и от активности ионных насосов (в первую очередь Na-K-АТФазы), при увеличении проницаемости разность потенциалов снижается, при увеличении активности разность потенциалов растет. Было получено примерное значение для концентрации хлора внутри тромбоцита.

В результате работы можно сделать вывод, что в рамках данной модели значение концентрации хлора в стационарном состоянии можно определить достаточно точно, ориентируясь на отношение проницаемостей для ионов хлора, натрия и калия в человеческих клетках.

### Литература

1. Avinoam Livne, Sergio Grinstein, Aser Rothstein - Volume-regulating behavior of human platelets // *Journal of cellular physiology*, 131, 1987.
2. Conor Mc Closkey, Sarah Jones, Martin P. Mahaut-Smith et al - Kv1.3 is the exclusive voltage-gated K<sup>+</sup> channel of platelets and megakaryocytes: roles in membrane potential, Ca<sup>2+</sup> signalling and platelet count // *The journal of Physiology*, 588, 2010.

## ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ ТОПОТЕКАНА И ГИДРАТИРОВАННОГО ФУЛЛЕРЕНА C<sub>60</sub> МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ТИТРОВАНИЯ

Сало В.А., Скуратовская И.В., Бучельников А.С.

*Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия*

*E-mail: viktoriya\_salo@mail.ru*

Водный коллоидный раствор фуллерена C<sub>60</sub> обладает потенциалом применения его в клинической практике при лечении онкологических заболеваний в качестве одного из компонентов в режиме комбинированной химиотерапии. Ранее было показано, что гидратированный фуллерен C<sub>60</sub> проявляет сродство к некоторым ароматическим биологически активным соединениям [1]. Настоящая работа посвящена изучению связывания антибиотика камптотецинового ряда топотекана (ТРТ) с фуллереном C<sub>60</sub>, в частности, количественной оценке связывания через нахождение равновесной константы ассоциации.

В качестве экспериментального метода был выбран метод спектрофотометрического титрования: при постоянной концентрации топотекана изменялась концентрация фуллерена C<sub>60</sub>, и в каждой точке записывался спектр оптического поглощения раствора смеси. Результаты эксперимента представлены на рисунке 1.

Для нахождения равновесной константы ассоциации топотекана и фуллерена C<sub>60</sub> была использована зависимость оптической плотности раствора смеси от концентрации фуллерена (см. вставку на рисунке 1), снятая на длине волны максимума поглощения несвязанного антибиотика (382 нм).

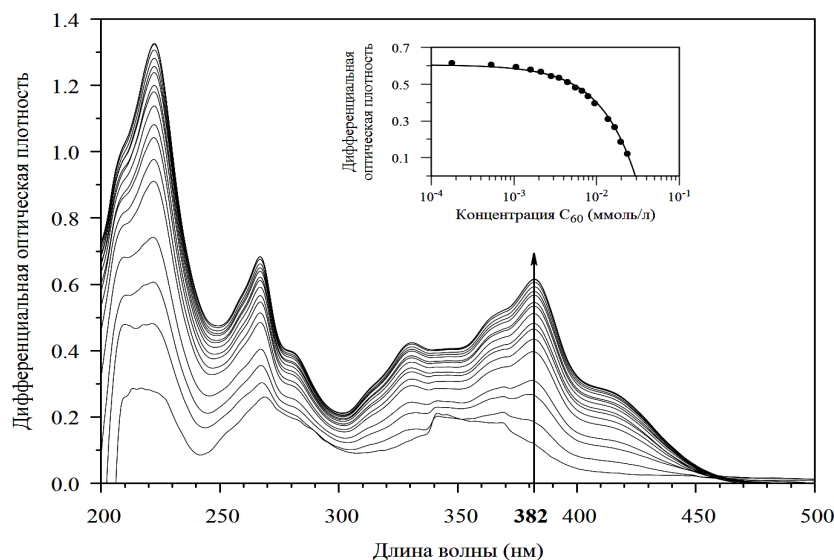


Рис. 1. Электронные спектры поглощения смешанных растворов ТРТ–С60. На вставке: зависимость оптической плотности растворов ТРТ–С60 от концентрации фуллерена С60, снятая на длине волны максимума поглощения чистого ТРТ (382 нм).

Анализ концентрационной зависимости оптической плотности  $D_{opt}(C_0)$  проводился с помощью модели из работы [2]

$$D_{opt}(C_0) = \varepsilon_m C'_{D1} + \varepsilon_{h1} K_{h1} C'_{R1} C'_{D1} B + \varepsilon_{h2} (C_{D0} - C'_{D1} - K_{h1} C'_{R1} C'_{D1} B), \quad (1)$$

где  $\varepsilon_m$ ,  $\varepsilon_{h1}$ ,  $\varepsilon_{h2}$  — коэффициенты молярного поглощения топотекана в состоянии мономера, 1:1 комплекса с фуллереном и в составе кластера фуллеренов, соответственно;  $C_0$  — общая концентрация фуллерена С60;  $C'_{R1}$ ,  $C'_{D1}$  — мономерные концентрации фуллеренов в составе т.н. конгломератов (подробнее см. [2]) и топотекана, соответственно, которые находятся из системы уравнений, отражающих баланс массы:

$$\begin{cases} \frac{C_0}{r} = C'_{R1} B + K_{h1} C'_{R1} C'_{D1} B + \frac{C'_{M0}}{r} + \frac{C'_{M0} B K'_R C'_{R1}}{r(1 - K'_R C'_{R1})} \\ C_{D0} = C'_{D1} + K_{h1} C'_{R1} C'_{D1} B + \frac{C'_{M0} H K_{h2} C'_{D1}}{r(1 - K_{h2} C'_{D1})} \end{cases}, \quad (2)$$

где  $B = 0.914$ ,  $C'_{M0} = 0.009$  ммоль/л,  $K_{h1}$  и  $K_{h2}$  — равновесные константы комплексообразования топотекана с фуллереном в составе 1:1 комплексов и в составе кластеров, соответственно;  $r$  — коэффициент разбавления.

Аппроксимация кривой титрования (см. вставку на рисунке 1) проводилась методом минимизации квадратичной функции невязки экспериментальных и рассчитанных по формуле (1) теоретических значений. Подгоночными параметрами выступали  $\varepsilon_{h1}$ ,  $\varepsilon_{h2}$ ,  $H$ ,  $K_{h1}$  и  $K_{h2}$ . Результаты расчетов представлены в таблице 1.

Таблица 1 — Расчетные параметры комплексообразования топотекана с фуллереном С60

Параметр	Значение
$\varepsilon_{h1}$ , л/моль·см	23000
$\varepsilon_{h2}$ , л/моль·см	51000
$K_{h1}$ , л/моль	28800
$K_{h2}$ , л/моль	3200
$H$	4.8

Фаза 1:1 комплексообразования сопровождается понижением молярного поглощения, в то время как рассеяние на кластерах фуллерена характеризуется повышенным поглощением. Это подтверждается выявленной из таблицы закономерностью  $\varepsilon_{h2} > \varepsilon_m > \varepsilon_{h1}$ . При этом комплексообразование с кластером фуллерена носит, как правило, неспецифический характер и характеризуется небольшим значением константы  $K_{h2}$ . В то же время константа 1:1 комплексообразования  $K_{h1}$  совпадает с типичным диапазоном констант для класса комплексов ароматических соединений с фуллереном  $C_{60}$  [1].

Работа выполнена в рамках гранта Президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ № НШ-5889.2018.3.

### Литература

1. Evstigneev M.P., et al. Complexation of  $C_{60}$  fullerene with aromatic drugs // Chem-PhysChem. 2013. V. 14 (3). P. 568–578.
2. Mosunov A.A., et al. General up-scaled model of ligand binding with  $C_{60}$  fullerene clusters in aqueous solution // Chem. Phys. Lett. 2019. [accepted]. doi:10.1016/j.cplett.2019.01.051

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НОВОГО ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОЕДИНЕНИЯ 2-НИТРОКСИСУКЦИНАТА 3-ГИДРОКСИ-6-МЕТИЛ-2-ЭТИЛПИРИДИНА С МЕМБРАНАМИ ФОСФАТИДИЛХОЛИНОВЫХ ЛИПОСОМ

Селезнёв Д.В.<sup>1</sup>, Полетаева Д.А.<sup>2</sup>, Файнгольд И.И.<sup>2,3</sup>, Котельникова Р.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>МГУ им. М.В. Ломоносова, факультет фундаментальной физико-химической инженерии, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт проблем химической физики РАН, г. Черноголовка,

<sup>3</sup>НОЦ МГОУ, г. Черноголовка, Россия

E-mail: selezmsu@yandex.ru

Данная работа посвящена изучению влияния нового полифункционального соединения 2-нитроксисукцината 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина (ПФС), синтезированного в ИПХФ РАН Федоровым Б.С., на модельные мембраны фосфатидилхолиновых липосом.

Локализацию ПФС в мембране оценивали с помощью метода флуоресцентных зондов. В качестве зонда использовали пирен. Исследования проводили на модельных мембранах фосфатидилхолиновых липосом. Малые моноламеллярные фосфолипидные липосомы готовили по методу ультразвуковой обработки больших мультиламеллярных липосом [1]. С помощью спектрофлуориметра Agilent Cary Eclipse регистрировали спектры флуоресценции пирена в составе фосфатидилхолиновых липосом. Известно, что гидрофобные молекулы флуоресцентного зонда пирена локализуются в мембране в области жирнокислотных остатков фосфолипидов [2]. При титровании пирена ПФС наблюдалось эффективное тушение флуоресценции пирена при незначительном изменении соотношения между «мономерным» (394 нм) и «эксимерным» (475 нм) пиками. Учитывая, что тушение флуоресценции пирена происходит при концентрациях соединений в диапазоне  $10^{-6}$ – $10^{-5}$  М, можно сделать заключение, что оно осуществляется не за счет динамических взаимодействий, а путем образования долгоживущих комплексов соединений с пиреном [2]. Из угла наклона линейных анаморфоз в координатах Штерна-Фольмера была рассчитана константа равновесия комплекса соединения ПФС с пиреном –  $k_p$ , которая составляет  $0,45 \cdot 10^4 \text{ М}^{-1}$ .

Таким образом, показано, что 2-нитроксисукцинат 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридин проникает в область жирнокислотных остатков фосфолипидов и включается в гидрофобные участки мембран.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований биологической активности 2-нитроксисукцината 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина *in vivo* в качестве потенциального лекарственного препарата для терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (тема № 01201361874).

### Литература

1. N. Van Rooijen, A. Sanders. Liposome mediated depletion of macrophages: mechanism of action, preparation of liposomes and applications //J. Immunol. Methods., 1994, №174, p. 83–93.
2. Полетаева Д.А. et al. Оценка мембранотропности водорастворимых полизамещенных производных фуллеренов люминесцентными методами //Российские нанотехнологии. 2012, №7.

## ХИРАЛЬНОСТЬ В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ

Семенова Е. В.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия*  
*E-mail: k.semenova99@gmail.com*

Одним из важных свойств некоторых молекул является хиральность — способность объекта не совпадать со своим зеркальным отражением. Два ассиметричных объекта, являющиеся зеркальным изображением один другого, называются энантиомерами (энантиоморфами). Правая и левая руки — это наиболее простой пример хиральных объектов: руки являются L- и D-энантиоморфами.

Несмотря на то, что энантиомеры обладают идентичными химическими свойствами, они могут иметь совершенно разную биологическую активность [1]. Любой живой организм состоит из ассиметричных соединений, а именно ассиметричные молекулы могут оказывать избирательное действие по отношению к другим энантиомерам. Поэтому две на первый взгляд химически идентичные молекулы могут совершенно по-разному влиять на живой организм. Это особенно важно учитывать при создании лекарственных препаратов, так как стереоизомеры противоположных типов по-разному влияют на организм: одна форма лекарственного средства может оказывать терапевтическое воздействие, а другая не усваиваться, быть менее активной или даже вызывать серьезные осложнения, являясь для организма токсичной.

Ключом к пониманию взаимодействия лекарственного средства с мишенью является системная молекулярно-биологическая закономерность: прослеживается тенденция чередования знака хиральности структурных уровней для ДНК и для белков [2]. То есть, начиная с уровня ассиметричного углерода в дезоксирибозе, отмечено чередование знака хиральности D-L-D-L при переходе на более высокий структурный уровень для ДНК, а, начиная с углерода в аминокислотах, отмечена последовательность смены знака хиральности L-D-L-D в структурно-функциональной иерархии белковых структур. В продолжение развития концепции о роли хиральности в структурообразовании биомолекул в данной работе впервые была создана подборка лекарственных средств с позиций хиральности, произведена их классификация по следующим критериям:

- Воздействие L- и D-формы на организм (терапевтическое, токсическое и т.п.).
- Тип лекарственного средства (антибиотик, противовоспалительное, иммуномодулирующее и т.п.).
- Мишень воздействия (ДНК, бактерии и т.п.).

Проведенный анализ позволил установить, какая из форм лекарственных препаратов чаще оказывает терапевтическое воздействие, и высказать предположения о возможных механизмах такого специфического воздействия.

### Литература

1. Гарднер М., Этот правый, левый мир. М.: МИР. 1967.
2. Твердислов В.А, Малышко Е.В., Ильченко С.А., Жулябина О.А., Яковенко Л.В., Периодическая система хиральных структур в молекулярной биологии // Биофизика. 2017. Т. 62, вып. 3. С. 421–434.

## АВТОВОЛНОВАЯ МОДЕЛЬ ФОРМИРОВАНИЯ МЕГАПОЛИСОВ В ПРЕДСТАВЛЕНИИ ТЕОРИИ НЕОДНОРОДНЫХ АКТИВНЫХ СРЕД

Семина А. Е.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия*  
*E-mail: syoanya@yandex.ru*

Предложена модель пространственно-временной самоорганизации урбоэкосистем как сопряженных активных сред. В основе модели — модифицированное авторами [1–2] уравнение Фитц-Хью-Нагумо, учитывающее неоднородности антропогенных (активатор) и природных (ингибитор) факторов. Обоснованность применения уравнения данного типа определяется относительной простотой системного анализа посредством двух уравнений типа активатор–ингибитор.

В модели рассмотрены два основных фактора, определяющих пространственную неоднородность: распределение населения и наличие барьеров распространения автоволнового фронта активатора (городские биоценозы, социально-экономические факторы) [1–2].

Получены условия формирования возбуждимого/невозбуждимого состояния активной среды и начального всплеска автоволны в зависимости от плотности населения и кинетических параметров системы (активатора и ингибитора). А также соответствие определяемого моделью значения безразмерной величины плотности населения в области переходной слоя и на окраинах жилых массивов, что позволило выявить коэффициент пропорциональности между параметрами безразмерной модельной задачи и соответствующими величинами в реальной городской среде.

Модельные расчеты подтверждены данными динамики численности и плотности населения и картографическими данными развития Москвы с 1946 по 2014 гг. Модель использована для анализа и прогнозирования развития территории Новой Москвы с 2017 по 2030 годы.

Разработана модель пространственно-временной самоорганизации урбоэкосистем на примере развития Шанхая. Массивы контрольных параметров модели получены на основе картографических данных Шанхая и прилегающих территорий с учетом социально-экономической целесообразности развития, динамики цен на жилье, доли земель для сельского хозяйства и ландшафтных особенностей. Получена прогностическая модель развития Шанхая до 2030 года.

Модель носит общий характер и направлена на выявление пороговых значений управляющих параметров структурообразования урбоэкосистем.

Автор выражает благодарность научному руководителю — к.т.н. Сидоровой А.Э. за предложенную научную тему и сотрудникам кафедры математики — к.ф.-м.н. Левашевой Н.Т. и к.ф.-м.н. Мельниковой А.А. за плодотворное сотрудничество.



**Литература**

1. Сидорова А.Э., Левашова Н.Т., Семина А.Е. Автоволновая модель морфогенеза мегаполисов в представлениях неоднородных активных сред // Известия РАН, серия физическая, 2019, том 83, № 1, с. 106–112.
2. Сидорова А.Э., Левашова Н.Т., Мельникова А.А., Семина А.Е. Модель структурообразования урбоэкосистем как процесс автоволновой самоорганизации в активных средах // Математическая биология и биоинформатика, 2017, том 12, № 1, с. 186–197.

**ПРИМЕНЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ ПОРИСТОГО КРЕМНИЯ  
В КАЧЕСТВЕ КОНТРАСТИРУЮЩИХ АГЕНТОВ  
В МЕТОДЕ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ**

Скобёлкина А.В.<sup>1</sup>, Кашаев Ф.В.<sup>1</sup>, Колчин А.В.<sup>1</sup>, Хилов А.В.<sup>2</sup>, Куракина Д.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия*

<sup>2</sup>*Институт прикладной физики РАН*

*E-mail: snastyia.19996@mail.ru*

Химически чистые кремниевые наночастицы (КНЧ) являются уникальным неорганическим материалом, характеризующимся малой токсичностью и способностью к биодеградации [1]. Большая удельная площадь поверхности пористого кремния (ПК) делает его удобным для применения в сфере медицины: КНЧ могут быть использованы в качестве биосенсоров для детектирования белков, антигенов или молекул нуклеиновых кислот и лекарственного скрининга [2]. Недавно также была показана возможность использования КНЧ в качестве контрастирующих агентов в оптической когерентной томографии (ОКТ) [3].

В данной работе для изготовления наночастиц был применён подход, заключающийся в последовательном применении методов электрохимического травления и импульсной лазерной абляции кремния в воде, этаноле и жидком азоте. В результате электрохимического травления пластин монокристаллического кремния формировались слои мезо- и микропористого кремния. Далее подложки подвергались пикосекундной (лазер Nd:YAG EKSPLA PL2143A, длина волны — 1064 нм, длительность, энергия и частота повторения импульсов — 34 пс, 1 мДж и 10 Гц соответственно) и фемтосекундной (лазер Cr:forsterite, длина волны — 1250 нм, длительность, энергия и частота повторения импульсов — 100 фс, 1 мДж и 10 Гц соответственно) лазерной абляции.

В результате пикосекундной абляции во всех используемых жидкостях удалось сформировать фракции КНЧ с размером менее 20 нм. Типичное распределение КНЧ по размерам представлено на рисунке 1а. Частицы имеют гладкую, близкую к сферической форму без заметных поверхностных шероховатостей. При фемтосекундной абляции получившиеся КНЧ имеют более широкое распределение по размерам, характеризующееся диапазоном 80–120 нм (рис. 1б). Синтезированные наночастицы могут быть нанесены поверхностно, либо введены локальной или внутривенной инъекцией, причем малый размер потенциально способствует эффективному проникновению при поверхностном нанесении. КНЧ, полученные путем абляции в этаноле и жидком азоте, проявляют эффективную фотолюминесценцию (ФЛ), пик которой попадает в диагностическое окно прозрачности биотканей (например, рис. 1в), что делает перспективным их применение в качестве ФЛ-маркеров для визуализации живых организмов.

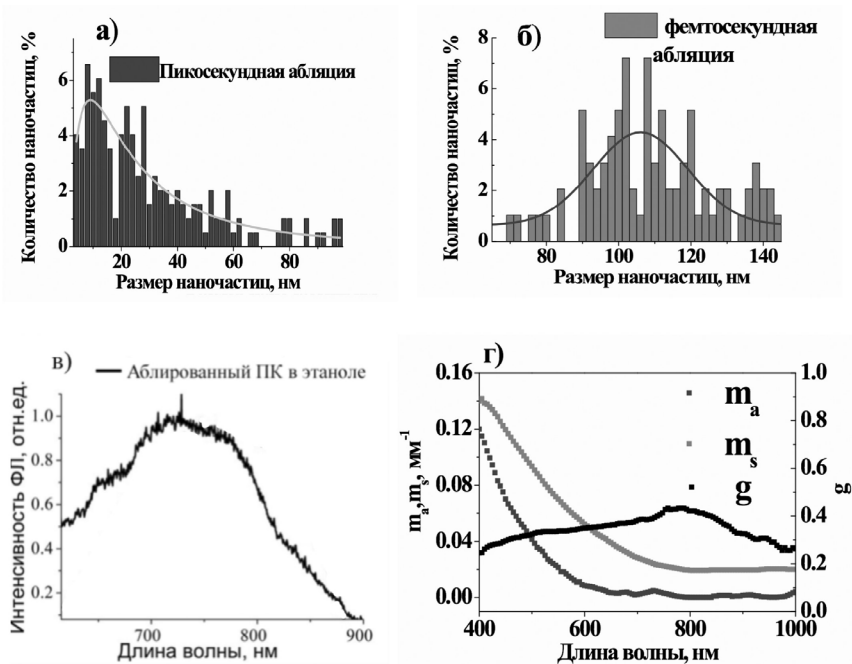


Рис. 1. Распределение по размерам (а) и ФЛ (в) КНЧ, полученных в результате абляции ПК пикосекундными импульсами в этаноле. Распределение по размерам (б) и спектры коэффициентов поглощения, рассеяния и фактора анизотропии (г) КНЧ, полученных в результате абляции ПК фемтосекундными импульсами в этаноле.

Для оценки возможности применения суспензий КНЧ как контрастирующих агентов в методах оптической биомедицинской диагностики необходимо исследование их оптических свойств. С помощью спектрофотометра Analytikjena Specord 250 plus с применением интегрирующей сферы измерялись спектральные зависимости коллимированного пропускания, полного пропускания и диффузного отражения. Спектры оптических характеристик восстанавливались из результатов спектрофотометрических измерений методом инверсного Монте-Карло. Восстановленные оптические свойства для КНЧ, полученных в результате абляции пористого кремния (ПК) фемтосекундными импульсами в этаноле, представлены на рисунке 1г. Суспензии наночастиц обладают коэффициентом рассеяния, превышающим значения коэффициента поглощения во всем рассматриваемом диапазоне. Для всех образцов с ростом длины волны наблюдается монотонное уменьшение коэффициента поглощения  $\mu_a$ . Для исследования эффективности КНЧ в качестве контрастирующих агентов были получены ОКТ — изображения поверхности агарового фантома посредством ОКТ установки ОСТ-1300Е (BioMedTech, ИПФ РАН, Россия) с центральной длиной волны 1280 нм. Показано, что поверхностное нанесение суспензии КНЧ позволяет контрастировать микроканалы на поверхности агарового фантома (рис. 2). Таким образом, КНЧ могут применяться для эффективного контрастирования структурных элементов биотканей при адресной доставке КНЧ.

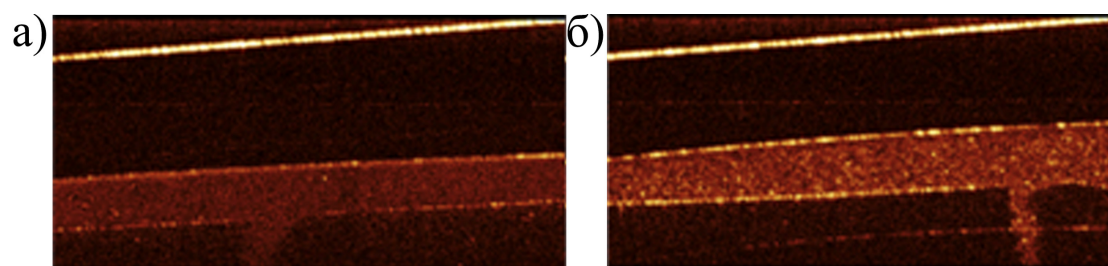


Рис. 2. ОКТ-изображения поверхности агарового фантома с микроканалом с поверхностно нанесёнными КНЧ, полученными при фемтосекундной лазерной абляции (а) в этаноле, (б) в жидком азоте.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (№ 18-32-00884 мол\_a).

### Литература

1. Almeida P.V., Shahbazi M.A., Correia A., et al. A multifunctional nanocomplex for enhanced cell uptake, endosomal escape and improved cancer therapeutic effect // *Future Medicine*. 2017. V. 12, № 12. P. 34.
2. О.И. Ксенофонтова, А.В. Васин, В.В. Егоров и др. Пористый кремний и его применение в биологии и медицине // *Ж. технической физики*. 2014. Т. 84, № 1, С. 67.
3. Заботнов С.В., Кашаев Ф.В., Шулейко Д.В. и др. Кремниевые наночастицы как контрастирующие агенты в методах оптической биомедицинской диагностики // *Квантовая электроника*. 2017. Т. 47, № 7. С. 638.

## АДАПТАЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА У ЛИСТЬЕВ *Tradescantia* КОНТРАСТНЫХ ЭКОТИПОВ К ИЗМЕНЯЮЩИМСЯ ВНЕШНИМ УСЛОВИЯМ

Смирнов А.В.

МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия  
E-mail: smirnov1997149@mail.ru

Фотосинтетический аппарат растения чувствителен к изменениям условий окружающей среды условия (интенсивность освещения и температура). Растения выработали несколько механизмов акклимации к изменяющимся условиям среды. Интенсивность света оказывает большое влияние на функционировании растений. Низкая интенсивность света ограничивает рост растений; однако, при избытке света в полдень, под действием яркого солнцем, может возникать приводит к окислительный стресс и происходит фотоингибирование фотосинтетического аппарата [1]. Акклимация фотосинтетического аппарата при вариации условий окружающей среды достигается за счет нескольких механизмов регуляции фотосинтетического аппарата:

1. Перераспределение электронных потоков по различным путям (нециклический / циклический / псевдоциклический перенос электронов).
2. Перераспределение квантов света между светособирающими антеннами фотосистем I и II (ФС I и ФС II).
3. Светоиндуцированная активация ферментов цикла Кальвина-Бенсона.
4. Регуляция скорости переноса электронов между ФС II и ФС I.

Эти механизмы регулируются светоиндуцированным изменением рН во тилакоидном пространстве (люмен) [2,3]. Известно, что уменьшение рН люмена замедляет окисление пластохинона цитохромным комплексом *b<sub>6</sub>f*, что препятствует потоку электронов от ФС II к ФС I. К тому же, закисление люмена усиливает рассеивание избыточной энергии в светособирающей антенне ФС II (нефотохимической тушение возбуждения молекул хлорофилла), что обеспечивает защиту фотосинтетического аппарата от избыточного освещения.

Известно, что светоустойчивые виды *Tradescantia* демонстрируют различные реакции на актинический свет (AL) различной интенсивности [4]. На примере *T. fluminensis* и *T. sillamontana* в качестве удобных моделей тенелюбивых и световыносливых видов, нами были исследованы фотосинтетические характеристики растений, выращенных при облучении при низкой освещенности (LL) или высокой освещенности (HL). Для регистрации активности фотосинтетической активности хлоропластов листьев *T. fluminensis* и *T. sillamontana* мы использовали метод флуоресцентного анализа. Было показано, что акклиматизация растений к LL и HL приводит к изменениям морфологии листьев и функциональным свойствам их фотосинтетического аппарата. Акклиматизация растений к условиям HL вызывает определенное увеличение толщины листьев. Также уровень NPQ у растений обоих видов, которые уже адаптированы к облучению

HL, обычно выше, чем у растений, адаптированных к LL. Было также выявлено, что даже кратковременное (минуты-десятки минут) повышение температуры ( $\geq 40\text{--}45\text{ }^\circ\text{C}$ ) действует как фактор, вызывающий, наряду с высокой освещенностью, ослабление фотосинтетической активности в листьях тенелюбивых видов растений.

### Литература

1. Ballottari M1, Dall'Osto L, Morosinotto T, Bassi R. (2006) Contrasting behavior of higher plant Photosystem I and II antenna systems during acclimation J Biol Chem.
2. Tikhonov A.N. (2013) pH-Dependent regulation of electron transport and ATP synthesis in chloroplasts. Photosynthesis Research 125, 65–94.
3. Tikhonov A.N. (2015) Induction events and short-term regulation of electron transport in chloroplasts: an overview. Photosynthesis Research 125, 65–94.
4. Mishanin V.I., Trubitsin B.V., Benkov M.A., Minin A.A., Tikhonov A.N. (2016) Light acclimation of shade-tolerant and light-resistant *Tradescantia* species: induction of chlorophyll a fluorescence and P700 photooxidation, expression of PsbS and Lhcb1 proteins. Photosynthesis Research 130, 275–291.

## СРАВНЕНИЕ СТРУКТУРНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК БЕЛКА Dps В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ МЕТОДОМ МАЛОУГЛОВОГО РЕНТГЕНОВСКОГО РАССЕЯНИЯ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗМОЖНОГО МЕХАНИЗМА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С ДНК

Сошинская Е.Ю.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия*  
*katuffus@rambler.ru*

Известно, что при различных стрессах, таких как голодание, тепловой шок, УФ и  $\gamma$ -облучение, воздействие лекарств и антибиотиков, живые клетки, бактерии, грибы вырабатывают белок Dps (**D**N**A**-**b**inding **P**rotein of **S**tarved cells), который образует с ДНК клеток устойчивый кристаллический комплекс, защищая таким образом генетический материал живых организмов от гибели. В то же время, именно этот защитный механизм приводит к устойчивости различных патогенов практически ко всем антибиотикам, доступным в настоящее время в клинической практике. Поэтому исследование механизмов взаимодействия Dps-ДНК имеет большое практическое значение.

Dps имеет сложную структуру и состоит из 12 одинаковых субъединиц. Будучи гистоноподобным, этот белок способен к неспецифическому связыванию с ДНК, принимая непосредственное участие в формировании ее компактной архитектуры. Предполагается, что защитный комплекс Dps-ДНК образуется с помощью гибких N-концов белка: удаление первых 8 или 18 аминокислот N-концевого домена значительно ухудшает способность белка к взаимодействию с ДНК. Более того, существуют доказательства, указывающих на зависимость образования комплекса Dps-ДНК от наличия в растворе  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ , хелатирующих агентов, а также от pH и ионной силы раствора [1]. В данном исследовании мы использовали метод малоуглового рентгеновского рассеяния для анализа поведения полноразмерного белка Dps в различных буферных растворах с целью выявления возможных механизмов его взаимодействия с ДНК. Измерения кривых малоуглового рентгеновского рассеяния проводились на синхротроне DESY, линии P12 в Гамбурге. В ходе исследования методом молекулярной тектоники были получены структуры белка (рис.1) с различной степенью разупорядочения N-концевых доменов в зависимости от состава буфера, а так же проверена их способность образовывать кристаллические комплексы с ДНК.

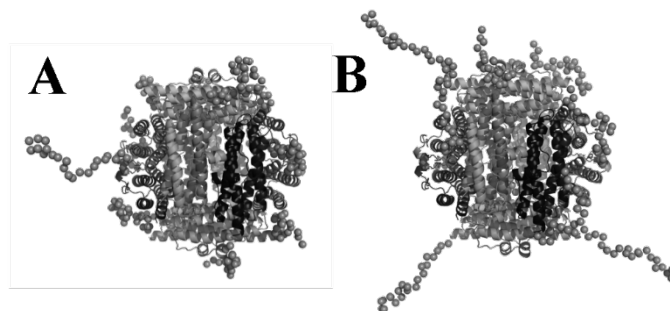


Рис. 1. Структуры белка Dps, восстановленные по кривой малоуглового рентгеновского рассеяния: **A** — в буфере 20мМ Tris-HCl, 100 мМ NaCl, pH 7.5; **B** — в буфере 50 мМ Tris-HCl, 50 мМ NaCl, 0.5 мМ EDTA, pH 8.0.

Данная работа была поддержана Российским научным фондом, проект 18-74-0071.

### Литература

1. Ceci P, et al. DNA condensation and self-aggregation of Escherichia coli Dps are coupled phenomena related to the properties of the N-terminus. *Nucleic Acids Res.* 2004. Vol. 32, No. 19, pp. 5935–5944.

## ТАКСИСЫ И АВТОВОЛНОВАЯ САМООРГАНИЗАЦИЯ МИКСОМИЦЕТОВ

Спирихина Л.Н.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия*

*E-mail: ljuda031097@yandex.ru*

В биологии развития научный интерес представляет изучение миксомицетов - тип слизевиков, на определённой стадии жизненного цикла образующих многоядерное вегетативное тело плазмодия путём деления ядра [1]. На базе модели трофической цепи [2] и модели ФХН [3] проанализированы условия сохранения и развития структуры трофических звеньев и влияние факторов среды на процессы самоорганизации миксомицетов как одного из звеньев цепи (в авторской программе на языке C++). Одним из методов регистрации разнообразных стадий жизненного цикла миксомицетов является цейтраферная (time-lapse) съёмка, суть которой заключается в создании серии фотографий с различным временным интервалом при различных параметрах среды. В экспериментах использовали микроскоп VigMicro 2.0.

Проведены эксперименты при изменении отдельных параметров: pH, температура, влажность. Исследована зависимость пространственного развития плазмодия от наличия аттрактанта и параметров среды.

Проведена систематизация факторов, определяющих движение волнового фронта миксомицетов и плесневых грибов. Для плесневых грибов исследовано движение автоволнового фронта в присутствии L- и D-арабинозы (как субстрата), а также их концентрационные эффекты.

### Литература

1. Рейвн П., Эворт Р., Айкхорн С. Современная ботаника. М., Мир, 1990, 344 с.
2. Заикин А.Н., Иванов П.С., Твердислов В.А., Яковенко Л.В. Пространственно-временная структура процессов трансформации, переноса и фракционирования органического вещества почвы. // *Биофизика*, 1999, том 44, вып. 5, с. 933–939.
3. R.A. FitzHugh. Impulses and physiological states in theoretical model of nerve membrane // *Biophys. J.* 1(1961), p.445–466.

## ОЦЕНКА ВКЛАДА БЕЛКА-КАНАЛА ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ *Panx1* В АКТИВАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ КРОВИ

Степанян М.Г., Мартьянов А.А.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия*

*E-mail: m.stepa24@gmail.com*

**Введение.** Тромбоциты — небольшие клеточные фрагменты (2–4 мкм), отвечающие за ключевые этапы процесса остановки кровотечения. [1] Ионные каналы в плазменной мембране тромбоцитов необходимы для поддержания объема клеток, мембранного потенциала, а также увеличения внутриклеточной концентрации свободных ионов кальция в ответ на активацию. Семейство паннексинов включает в себя 3 гликопротеина: *Panx1*, *Panx2* и *Panx3* [2]. В то время как последние два экспрессируются весьма ограниченно (*Panx2* участвует в дифференциации нейронов, *Panx3* — хондроцитов, остеобластов, сперматозоидов), *Panx1* экспонируется у млекопитающих на большинстве клеток, в том числе и на поверхности тромбоцитов [3]. Показано, что *Panx1* может выполнять транспорт АТФ и кальция, однако роль этого канала в активации тромбоцитов до сих пор является дискуссионной.

**Цели.** Определение механизма влияния *Panx1* на внутриклеточную сигнализацию в тромбоцитах крови.

**Методы.** Кровь была взята у мышей *C57Bl/6*, *PANX1*<sup>-/-</sup> из брюшной аорты. Для последующих экспериментов тромбоциты были выделены из крови и ресуспендированы в буфере Тирода (рН 7.3). Тромбоциты были загружены чувствительной к краской *Fura-RED*. Посредством проточного цитометра *BD FACS Canto II* была исследована активация тромбоцитов АДФ, *TRAP6*, *CRP*, фукоиданом. Тромбоциты в цельной крови были исследованы посредством инвертированного флуоресцентного микроскопа *Nikon Eclipse Ti*: в проточной камере наблюдался рост тромбов на подложке с иммобилизованным фибриллярным коллагеном (*Chrono-Log Corporation, USA*). Механизмы влияния *Panx1* исследовались с помощью математической модели, описывающей изменение концентрации ионов кальция в цитозоле тромбоцита при активации.

**Результаты.** Сравнение кальциевой сигнализации у мышей *C57Bl/6* и *PANX1*<sup>-/-</sup> при исследовании посредством проточной цитометрии показало, что кальциевый ответ на все агонисты у *PANX1*<sup>-/-</sup> ослаблен, по сравнению с мышами *C57Bl/6*. Аналогичные результаты были получены при исследовании функциональных ответов — активации тромбоцитарных интегринов *GrpIIbIIIa* (связывание флуоресцентно меченного фибриногена), а также прокоагулянтной активности (связывание флуоресцентно меченного аннексина-V). Площадь покрытия покрытой коллагеном поверхности тромбами у *PANX1*<sup>-/-</sup> мышей была уменьшена, в сравнении с *C57Bl/6* животными. Анализ математической модели показал, что вход ионов кальция через канал *Panx1* составляет 5–30% от общей мобилизации кальция при активации тромбоцита.

**Итоги.** На основании полученных результатов можно сделать следующий вывод: паннексин *pnx1* выполняет вспомогательную функцию при активации тромбоцитов крови, обеспечивая дополнительный приток свободных ионов кальция в цитоплазму клеток при активации.

### Литература

1. М. Пантелеев, *Фундаментальные исследования в практической медицине на современном этапе*, 2004.
2. Y. Panchin, *Curr. Biol.*, 2000.
3. K. Taylor, *Journal of thrombosis and hemostasis*, 2014.

## ЭНДОВАЗАЛЬНАЯ КОАГУЛЯЦИЯ ВАРИКОЗНЫХ ВЕН С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДВУХМИКРОННОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Артемов С.А., Беляев А.Н., Бушукина О.С., Костин С.В., Ляпин А.А.,  
Рябочкина П.А., Таратынова А.Д., Хрущалина С.А.

ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарёва», г. Саранск, Россия

e-mail: [alina.taratynova@mail.ru](mailto:alina.taratynova@mail.ru)

Варикозное расширение вен — одна из самых распространенных сосудистых патологий. Одним из методов лечения является эндовазальная лазерная коагуляция (ЭВЛК). Данный метод основан на тепловом эффекте, возникающем вследствие избирательного поглощения излучения различных длин волн биологической тканью. Известные на данный момент аппараты работают с использованием длин волн 0.81, 0.98 мкм, что соответствует полосе поглощения гемоглобина, а также используется длина волны 1,55 мкм, соответствующая спектру поглощения воды. В первом случае используются значения мощности излучения 15–20 Вт [1–7], во втором случае — 10–12 Вт [7–10]. Проведение ЭВЛК в этих случаях может сопровождаться рядом осложнений, связанных с повреждением околовенозных тканей из-за высоких значений мощности используемого лазерного излучения. В соответствии с этим, актуальной задачей является дальнейшее снижение мощности лазерного излучения, используемого для проведения ЭВЛК. Одним из решений этой задачи является использование двухмикронного лазерного излучения, которое также соответствует полосам поглощения воды. Более высокое значение коэффициента поглощения воды в данном спектральном диапазоне, по сравнению с аналогичной величиной в области 1.5 мкм, предполагает реализацию ЭВЛК при меньших значениях мощности лазерного излучения, что в свою очередь обеспечит меньшее повреждение перивенозных тканей.

В экспериментах *in-vitro* было показано, что коагуляция варикозных вен посредством излучения  $\text{LiYF}_4:\text{Tm}$  лазера с длиной волны 1.885 мкм происходит при значениях мощности 3–5 Вт [11]. В ходе настоящей работы с использованием излучения лазера с длиной волны 1,912 мкм нами были осуществлены эксперименты *in-vivo* по ЭВЛК вен овец с последующим контролем послеоперационной динамики заживления. Подтверждение коагуляции венозного сосуда овцы после эксперимента осуществлялось с помощью метода УЗИ, а также путем анализа срезов гистологических фрагментов вен.

Было выявлено, что наименьшее повреждение околовенозных тканей соответствует мощности лазерного излучения 1.5 Вт, 3 Вт. В то же время анализ срезов гистологических фрагментов вен, взятых через 40 дней после проведения операции, свидетельствует об эффективности процесса ЭВЛК с использованием лазерного излучения с длиной волны 1,912 мкм и мощностью излучения 3 Вт.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ\_МК №18-29-20039.

### Литература

1. <http://www.milon.ru/indexphtml>.
2. Kim H.S., Nwankwo I.J., Hong K., McElgun P.S.J., Lower energy endovenous laser ablation of the great saphenous vein with 980 nm diode laser in continuous mode, *Cardiovasc. Intervent. Radiol.*, vol. 29, pp. 64–69, 2006.
3. Proebstle T.M., Moehler T., Gül D., Herdermann S., Endovenous treatment of the great saphenous vein using a 1,320 nm Nd:YAG laser causes fewer side effects than using a 940 nm diode laser, *Dermatol. Surg.*, vol. 31, pp. 1678–1684, 2005.
4. Min R.J., Khilnani N., Zimmet S.E., Endovenous laser treatment of saphenous vein reflux: Long-term results, *J. Vasc. Interv. Radiol.*, vol. 14, pp. 991–996, 2003.
5. Timperman P.E., Sichlau M., Ryu R.K., Greater energy delivery improves treatment success of endovenous laser treatment of incompetent saphenous veins, *J. Vasc. Interv. Radiol.*, vol. 15, pp.1061–1063, 2004.

6. Vuylsteke M., Liekens K., Moons P., Mordon S., Endovenous laser treatment of saphenous vein reflux: how much energy do we need to prevent recanalizations?, *Vasc. Endovasc. Surg.*, vol. 42(2), pp.141–149, 2008.
7. Weiss R.A., Weiss M.A., Eimpunth S., Wheeler S., Udompunturak S., Beasley K.L., Comparative outcomes of different endovenous thermal ablation systems on great and small saphenous vein insufficiency: long-term results, *Las. Surg. Med.*, vol. 47, pp. 156–160, 2015.
8. Sokolov A.L., Liadov K.V., Lutsenko M.M., Lavrenko S.V., Liubimova A.A., Verbitskaya G.O., Minaev G.O., Endovascular laser ablation with wavelength 1,560 nm for varicose veins, *Angiol. Sosud. Khir.*, vol. 15(1), pp. 69–76, 2009.
9. Pannier F., Rabe E., Rits J., Kadiss A., Maurins U., “ndovenous laser ablation of great saphenous veins using a 1470 nm diode laser and the radial fibre – follow-up after six months, *Phlebology*, vol. 26, pp. 35–39, 2011.
10. Almeida J., Mackay E., Javier J., Mauriello J., Raines J., Saphenous laser ablation at 1470 nm targets the vein wall, not blood, *Vasc. Endovas. Surg.*, vol. 43(5), pp. 467–472, 2009.
11. Belyaev A.N., Chabushkin A.N., Khrushchalina S.A., Kuznetsova O.A., Lyapin A.A., Investigation of endovenous laser ablation of varicose veins *in vitro* using 1.885- $\mu\text{m}$  laser radiation, *Las. Med. Sci.*, vol. 31(3), pp. 503–10, 2016.

#### ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ ПРОЦЕССА АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ С ПОМОЩЬЮ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИХ ПОТЕНЦИАЛОВ

Филькова А.А., Гарсон Д.А.К.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия*  
*e-mail: aa.filjkova@physics.msu.ru*

Тромбоциты — клетки крови, отвечающие за остановку кровотечений. Для выполнения этой функции тромбоциты переходят в так называемое «активированное» состояние при контакте с повреждением и агрегируют друг с другом. Для тестирования способностей тромбоцитов в клинике используется метод агрегометрии, в котором суспензия клеток активируется добавлением растворимого агониста, после чего агрегация наблюдается по изменению светопропускания раствора. При активации тромбоцитов крови *in vitro* слабыми агонистами, например, низкими концентрациями АДФ, наблюдается явление обратимой агрегации, когда через несколько минут после образования агрегатов тромбоцитов происходит их распад [1]. Механизмы данного явления на настоящий момент не ясны.

Цель работы — характеристика процесса агрегации тромбоцитов с помощью термодинамических потенциалов и исследование механизмов дезагрегации тромбоцитов.

Для описания обратимой агрегации была разработана компьютерная модель, способная описать обратимую агрегацию, наблюдаемую в эксперименте. В модели учтены такие процессы, как активация и дезактивация, агрегация и дезагрегация тромбоцитов. Значения параметров модели подбирались автоматически с помощью методов оценки параметров, реализованных в программном обеспечении COPASI. В экспериментальной части исследования проводились измерения агрегации тромбоцитов по методу Борна на агрегометрах Chrono-Log и Viola. Для эксперимента использовалась богатая тромбоцитами плазма и отмытые тромбоциты, выделенные из крови здоровых доноров. Обратимая агрегация тромбоцитов наблюдалась при активации различными концентрациями АДФ (2.5–10 мкМ). В эксперименте варьировались такие параметры, как концентрация тромбоцитов и температура инкубации.

В работе показано, что максимальная агрегация тромбоцитов значительно сокращается при снижении концентрации тромбоцитов в суспензии. При увеличении темпе-



ратуры инкубации с 25°C до 37°C агрегация тромбоцитов в ответ на АДФ снижается, что расходится с литературными данными в ответ на другие агонисты тромбоцитов [2]. В ходе исследования была проведена оценка термодинамических параметров суспензии тромбоцитов в процессе обратимой агрегации и их связи с внешним воздействием. Во время агрегации общее число частиц в системе сокращается, что приводит к кажущемуся уменьшению энтропии системы. Так как сообщение энергией с внешней средой пренебрежимо мало, то соответствующее увеличение свободной энергии может быть объяснено высвобождением внутренних запасов энергии тромбоцита в ответ на активацию.

В результате исследования охарактеризована агрегационная способность тромбоцита как внутренний запас свободной энергии и получены зависимости агрегационной способности от концентрации активатора.

### Литература

1. Born G.V.R. Aggregation of Blood Platelets by Adenosine Diphosphate and its Reversal. Nature. Nature Publishing Group; 1962 Jun 9;194:927.
2. Gisela Scharbert, Madeleine Kalb, Corinna Marschalek, and Sibylle A. Kozek-Langenecker The Effects of Test Temperature and Storage Temperature on Platelet Aggregation: A Whole Blood In Vitro Study. Anesthesia and Analgesia, 102(4), 1280–1284.

## АНАЛИЗ ВКЛАДА RYR В МОДЕЛЬ $Ca^{2+}$ — СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ АСТРОЦИТА

Фрицлер Я.В.

*СФУ, институт фундамент. биологии и биотехнолог., Красноярск, Россия*

*E-mail: fri.yana@mai.ru*

Кальций — сигнальных пути в астроците регулируют множество клеточных процессов, а также регулируют межклеточные взаимодействия. Изучение клеточных процессов и взаимодействий возможно с помощью математического моделирования кальций — сигнальных путей. Показано, что существующие основные четыре модели астроцита противоречат друг другу [4]. Модели не учитывают некоторые существенные механизмы, такие как ионные токи клеточной мембраны и различные внутриклеточные сигнальные каскады. В моделях отсутствует рианодиновый канал, влияющий на механизм кальций индуцированного высвобождения кальция (CICR).

Целью работы является анализ вклада рианодинового рецептора в общий кальций-сигнальный поток астроцита.

По анализу литературных данных, определены кальций — сигнальные пути астроцита: потенциал — зависимый канал (VGCC), включающий в себя низковольтные каналы (Т-тип) и высоковольтные каналы (L-, N-, P-, Q-, R- типы); эндоплазматический ретикулумый (ЭПР)  $Ca^{2+}$  АТФазный канал (SERCA); плазматический  $Ca^{2+}$  АТФазный канал (PMCA); глутаматный рецептор (mGluRs); инозитол 1,4,5 трис-фосфатный рецептор (IP3R) и рианодиновый рецептор (RyR).

За основу модели выбрана общая модель Де Питты и др [1]. Модель включает в себя три потока: поток через IP3R, подтечку из ЭПР, поток через SERCA. В данной модели учтены особенности синтеза и деградации молекул IP3.

К исходной модели Де Питта добавлен канал спонтанного поступления кальция во внутриклеточную среду VGCC [6]. Также добавлен канал, выводящий кальций во внеклеточное пространство PMCA [5]. Добавлен поток через RyR [2, 3].

Таким образом, динамика кальция в цитозоле имеет следующий вид:

$$\frac{d[Ca^{2+}]_{cyt}}{dt} = J_{IP3} + J_{leak} + J_{VGCC} + J_{RyR} - J_{serca} - J_{pmca} \quad (1)$$

где  $J_{IP3}$  — поток через IP3R;  $J_{serca}$  и  $J_{pmca}$  — потоки через SERCA и PMCA соответственно;  $J_{leak}$  — подтечка из ЭПР,  $J_{VGCC}$  — поток через VGCC.

В модели Де Питта концентрация кальция в ЭПР постоянна, что не соответствует реальным процессам в клетке, в настоящей модели добавлена динамика кальция в ЭПР и имеет вид:

$$\frac{d[Ca^{2+}]_{er}}{dt} = -J_{IP3} - J_{leak} - J_{RyR} + J_{serca} \quad (2)$$

Динамика IP3 в модели не изменена и имеет вид:

$$\frac{d[IP3]_{cyt}}{dt} = J_{beta} + J_{delta} - J_{3K} - r_{5P} [IP3]_{cyt} \quad (3)$$

где  $J_{beta}$  — синтез молекул IP3 от субъединицы бета,  $J_{delta}$  — синтез молекул IP3 от субъединицы дельта,  $J_{3K}$  — деградация IP3 по 3K механизму,  $r_{5P}$  — константа деградации IP3 по 5P механизму.

Моделирование производилось в течение 1400 секунд. Генерировалось 5 глутаматных стимуляций (5  $\mu$ M глутамата) в диапазонах: 10–110, 310–410, 610–710, 910–1010, 1210–1310 секунды. Начальная концентрация кальция в цитозоле равна 0,09  $\mu$ M, в ЭПР — 2  $\mu$ M, IP3 — 0,22  $\mu$ M. Математическая модель  $Ca^{2+}$  сигнальных потоков астроцита построена в пакете Python 3.6.6.

Для полученной математической модели были проведены эксперименты: в первом случае, активным был только IP3R, во втором, активны оба изучаемых рецептора. Так получено, что RyR ингибирует CICR. Появление осцилляций связано с мгновенной активацией RyR, амплитуда которых задается «хилловской» компонентой уравнения потока. Включение RyR влияет на динамику кальция в ЭПР (рисунок 1). Уменьшение концентрации с активированием рецептора связано с ингибированием CICR.

Таким образом, в клетке содержатся два рецептора, выводящих  $Ca^{2+}$  из ЭПР в цитозоль, для дополнения друг друга. Быстрый и мощный RyR позволяет мгновенно повышать концентрацию ионов кальция в цитоплазме, IP3R же эффективен на более длительных процессах. Следовательно, в математических моделях необходимо учитывать и IP3R, и RyR.

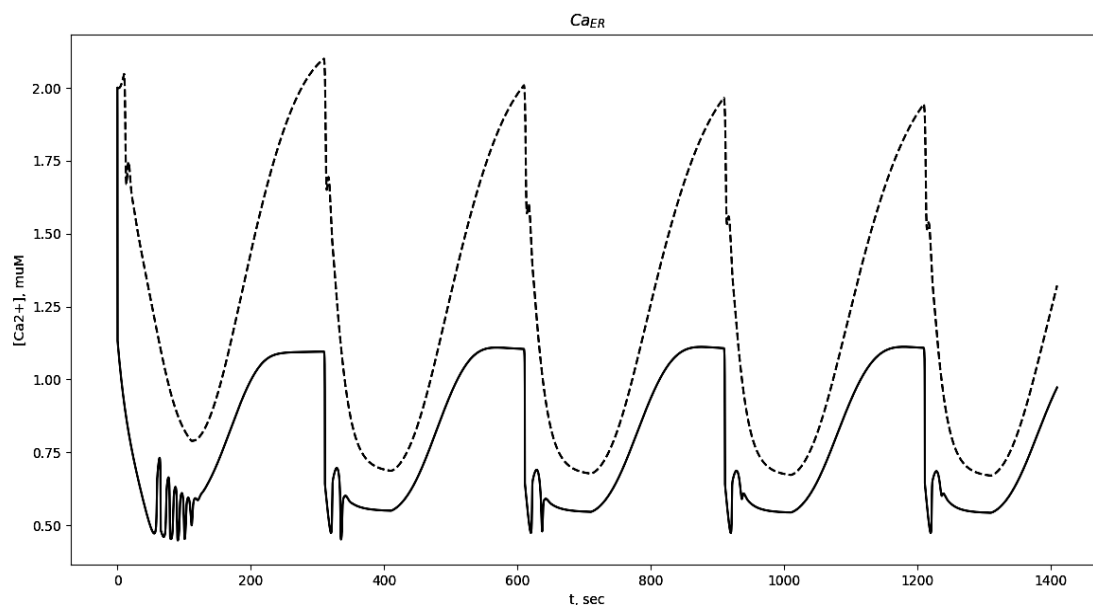


Рис. 1. Динамика кальция в ЭПР: пунктирная линия без активации потока через RyR, сплошная линия — с учетом вклада RyR.

Составлена математическая модель кальций — сигнальных путей: к базовой модели добавлены VGCC, PMCA, RyR. Расположение RyR и IP3R в клетке связано с быстрым регулированием концентрации кальция в цитозоле: мгновенно активирующийся RyR дополняет менее быстрый IP3R, эффективный при длительных повышениях  $Ca^{2+}$ .

### Литература

1. De Pittà M. et al. Glutamate regulation of calcium and IP 3 oscillating and pulsating dynamics in astrocytes // *Journal of biological physics*. 2009. Т. 35. №. 4. С. 383–411.
2. Dupont G. et al. *Models of calcium signalling*. – Cham, Switzerland : Springer International Publishing, 2016. Т. 43.
3. Friel D. D.  $[Ca^{2+}]_i$  oscillations in sympathetic neurons: an experimental test of a theoretical model // *Biophysical journal*. 1995. Т. 68. №. 5. С. 1752–1766.
4. Manninen T., Havela R., Linne M. L. Reproducibility and comparability of computational models for astrocyte calcium excitability // *Frontiers in neuroinformatics*. 2017. Т. 11. С. 11.
5. Politi A. et al. Models of IP3 and  $Ca^{2+}$  oscillations: frequency encoding and identification of underlying feedbacks // *Biophysical Journal*. 2006. Т. 90. №. 9. С. 3120–3133.
6. Zeng S. et al. Simulation of spontaneous  $Ca^{2+}$  oscillations in astrocytes mediated by voltage-gated calcium channels // *Biophysical journal*. 2009. Т. 97. №. 9. С. 2429–2437.

## КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ АДСОРБЦИИ ФАКТОРА ФОН ВИЛЛЕБРАНДА К КОЛЛАГЕНУ В ПОТОКЕ ЖИДКОСТИ

Цю Н. Г.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия*  
*E-mail: tciu.ng17@physics.msu.ru*

Белок фактор фон Виллебранда (von Willebrand Factor, VWF), находясь в кровеносной системе, обеспечивает остановку кровотечения в микрососудах и артериях [1]. Он является связующим звеном для неактивированных тромбоцитов крови. VWF способен адсорбироваться к коллагену, позволяя тромбоцитам из кровотока прикрепиться к ране. Этот многодоменный белок циркулирует в кровеносной системе в виде мультимеров — нитей длиной до 5 мкм [2]. Вследствие гидрофобных взаимодействий белок приобретает компактную (глобулярную) форму. При высоких сдвиговых напряжениях в жидкости VWF может приобретать вытянутую конформацию. В данной работе исследуется скорость адсорбции фактора фон Виллебранда к поверхности микрофлюидной камеры при различных гидродинамических условиях.

В компьютерной модели мы представляем фактор фон Виллебранда как цепочку шариков, соединенных нелинейно растяжимыми пружинами. Для вязкой жидкости, в которую помещен полимер, используется модель сплошной среды. Для расчётов используется комбинация методов решёточного уравнения Больцмана и динамики частиц. Исследуется зависимость скорости адсорбции от параметров взаимодействия между полимером и растворителем, полимером и поверхностью. Изучается конформация адсорбированного полимера в зависимости от пристеночной скорости сдвига в жидкости.

### Литература

1. Schneider S.W., et al. Shear-induced unfolding triggers adhesion of von Willebrand factor fibers // *PNAS* 2007. V. 104 (19). P. 7899–7903.
2. Springer T.A. von Willebrand factor, Jedi knight of the bloodstream // *BLOOD* 2014. V. 124(9). P. 1412–1425

## СТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЛКА ОВЕЧЬЕГО ПРИОНА МЕТОДОМ МАЛОУГЛОВОГО РЕНТГЕНОВСКОГО РАССЕЙНИЯ

<sup>1</sup>Шкода Е.А., <sup>2</sup>Дадинова Л.А., <sup>3</sup>Мельникова А.К., <sup>4</sup>Сорокина С.А.,  
<sup>2</sup>Штыкова Э.В.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, <sup>1</sup>физический факультет, <sup>3</sup>факультет  
биоинженерии и биоинформатики Москва, Россия*

*<sup>2</sup>ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, Москва, Россия*

*<sup>4</sup>ИЭОС им. А. Н. Несмеянова РАН, Москва, Россия*

*E-mail: ekaterina-shkoda@mail.ru*

Прионные белки имеют две конформации — обычную, которая необходима для нормального функционирования живого организма, и неправильно свернутую амилоидную форму, называемую «прионом». Прионы являются крайне опасными как для людей, так и для других млекопитающих, так как являются причиной ряда летальных нейродегенеративных расстройств, называемых трансмиссивными губчатыми энцефалопатиями (ТГЭ) [1]. Несмотря на известные данные о том, что ключевым событием в патогенезе является превращение  $\alpha$ -спиралей белка в  $\beta$ -листы, причина этих изменений и механизм образования фибрилл остаются невыясненными. Также загадкой является роль олигомеров в пагубном влиянии на клетки организма-хозяина. Как только процесс свертки запускается, все больше белков самопроизвольно скручиваются в неправильную конформацию и накапливаются в организме, вызывая смерть нейронных клеток [2]. Агрегация белка является отличительной чертой не только ТГЭ, но и болезней Альцгеймера и Паркинсона [1,2]. Опасность вышеперечисленных расстройств состоит в том, что на данный момент не существует лекарств, способных остановить или хотя бы задержать их течение.

Чтобы лучше понять молекулярные механизмы олигомеризации прионов, мы проанализировали структурное поведение прионного белка овцы в растворе при нейтральном рН с использованием метода малоуглового рентгеновского рассеяния. Наше исследование показывает, что этот белок в растворе агрегирует и образует олигомеры удлиненной формы определенного размера. Путь, ведущий к образованию этих олигомеров, может быть ключом к раскрытию их биологической роли и иметь фундаментальное значение для выяснения механизма прионных заболеваний.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта РФФИ № 18-54-74001 ЕМБЛ\_т.

### Литература

1. Macedo B., Sant'Anna R., Navarro S., Cordeiro Y., Ventura S. Mammalian prion protein (PrP) forms conformationally different amyloid intracellular aggregates in bacteria // Macedo et al. *Microb Cell Fact.* 2015, 14(174).
2. Redecke L., Bergen M., Clos J., Konarev P. V., Svergun D. I., Fittschen U.E.A., Broekaert J.A.C., Bruns O., Georgieva D., Mandelkow E., Genov N., Betzel C. Structural characterization of  $\beta$ -sheeted oligomers formed on the pathway of oxidative prion protein aggregation in vitro // *Journal of Structural Biology.* 2007, v. 157, p. 308–320.

## МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИКИ ДОМЕНА A2 ФАКТОРА ФОН ВИЛЛЕБРАНДА ПРИ РАСТЯЖЕНИИ ПАРОЙ СИЛ

Юркова Д. О.

*МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия*

*E-mail: iurkova.do16@physics.msu.ru*

Одной из важнейших проблем биофизики является изучение механизма агрегации тромбоцитов. Нарушения гемостаза являются причиной большого количества смер-

тельных заболеваний, тем не менее, механизм образования тромбов до сих пор не изучен до конца.

Важную роль в обеспечении гемостаза играет растворенный в крови фактор фон Виллебранда. За счёт взаимодействия с этим белком тромбоциты замедляются в потоке крови и прикрепляются к месту повреждения. Рост тромба контролирует домен A2 фактора фон Виллебранда: под воздействием растворенной в крови металлопротеазы ADAMTS13 неустойчивая связь в домене рвётся, а значит, сверхкрупные мультимеры фактора фон Виллебранда будут расщепляться.

С другой стороны, неконтролируемое расщепление при нормальном гемостазе также не наблюдается, так как место неустойчивой связи становится доступным для фермента только при анфолдинге домена. Это интересная с точки зрения биофизики система: механический процесс анфолдинга, вызванный гидродинамическими силами, открывает возможность для биохимического процесса разрезания белка протеазой.

В рамках данной работы исследуется физическая часть этого процесса.

На основе данных о строении домена A2, взятых из банка данных PDB, рассматриваются значения силы, при которых белок разворачивается достаточно для того, чтобы неустойчивая связь оказалась открытой для внешнего воздействия. Финальный результат — зависимость среднеквадратичного отклонения структуры белка от референтного фрейма от времени воздействия силы (рис. 1).

Видна заметная пауза для небольших значений силы в частично развёрнутом промежуточном состоянии. С увеличением силы характерное “плато” исчезает. Эти данные неплохо согласуются с полученными экспериментально, что говорит об эффективности использования компьютерного моделирования в исследовании домена A2 фактора фон Виллебранда и его взаимодействия с ADAMTS13.

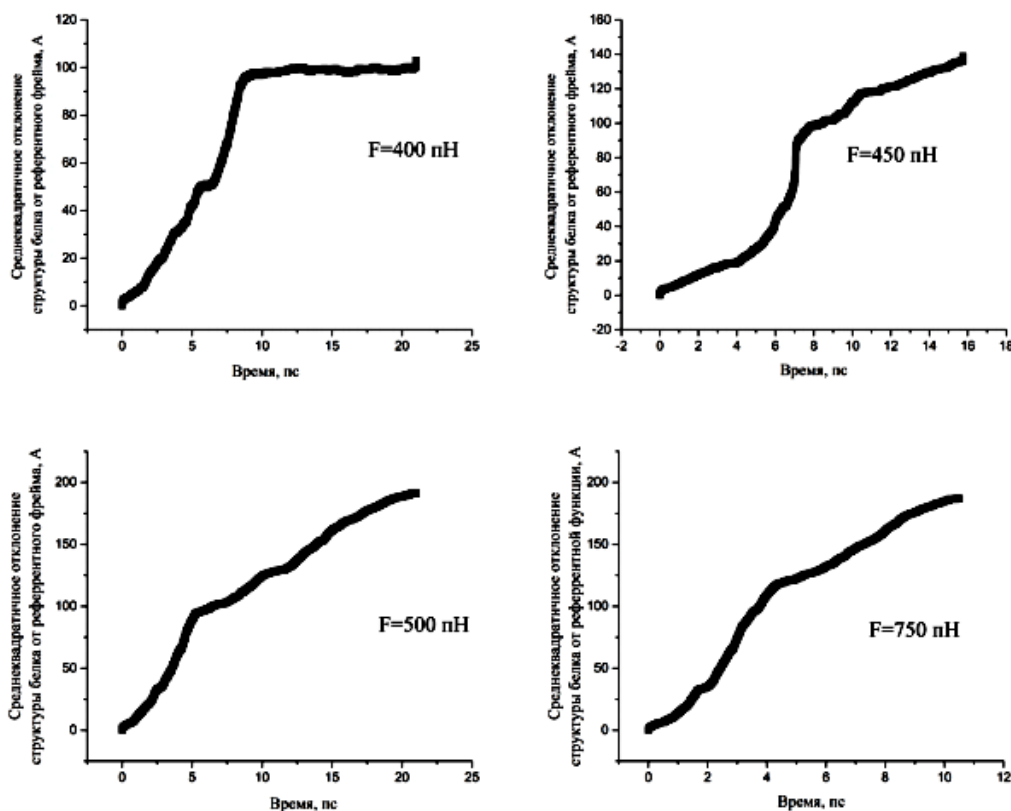


Рис. 1. Зависимость среднеквадратичного отклонения структуры белка от референтного фрейма от времени воздействия силы.

## Литература

1. Springer, Timothy A. Boston. von Willebrand factor, Jedi knight of the bloodstream // Blood, 2014, p. 1412–1425.

2. Junyi Ying, Yingchen Ling, Lisa A. Westfield, J. Evan Sadler, Jin-Yu Shao. Unfolding the A2 Domain of Von Willebrand Factor with the Optical Trap // *Biophys J.*, 1998, p. 1685–1693.
3. Xiaohui Zhang, Kenneth Halvorsen, Cheng-Zhong Zhang, Wesley P. Wong, Timothy A. Springer. Mechanoenzymatic Cleavage of the Ultralarge Vascular Protein von Willebrand Factor // *Science*, 2009, 324 (5932), p. 1330–1334.
4. Lankhof H, Damas C, Schiphorst ME, Ijsseldijk MJ, Bracke M, Furlan M, Tsai HM, de Groot PG, Sixma JJ, Vink T. von Willebrand factor without the A2 domain is resistant to proteolysis // *1997 г., Thromb Haemost*, 1997, 77(5), p. 1008–1013.

## ИЗМЕРЕНИЕ УРОВНЯ МАКРОМОЛЕКУЛ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ПРОТОННОЙ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Яковлев А.Н.<sup>1</sup>, Манжурцев А.В.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия  
<sup>2</sup>ИБХФ им. Н.М. Эмануэля РАН, <sup>3</sup>НИИ неотложной детской хирургии и  
травматологии, Москва, Россия  
yakovlevalekcej@bk.ru

Протонные спектры в мозге человека содержат перекрывающиеся сигналы, обусловленные близкими значениями химического сдвига, вызванные схожим химическим строением и низкими полями, используемыми в медицине (<3Т). Так, например, сигнал основного тормозного нейромедиатора ГАМК ( $\gamma$ -аминомасляная кислота, GABA) в области 3 м.д. перекрывается сигналами креатина с фосфокреатином (~8,5–11,5 мМ [1]), гомокарнозином (~0,3–0,6 мМ [1]) и макромолекулами (аполипротеины, ММ). Полученный с использованием импульсной последовательности (ИП) MEGA-PRESS[2] сигнал в области  $\delta=3$  м.д. содержит в себе сигналы GABA (интенсивностью ~34% от общего сигнала), гомокарнозина (~16%), ММ (~50%). Использование в MEGA-PRESS частотно-селективного импульса (ЧСИ) на 1.5 м.д. вместо 7.56 м.д. позволяет удалить сигнал ММ, оставляя GABA и гомокарнозин [3]. Однако, получаемый при этом суммарный сигнал мал и непригоден для количественной обработки, поэтому чаще всего используется методика без подавления ММ (GABA+). По данным [4] использование показывает статистически достоверное увеличение концентрации GABA у детей, получивших черепно-мозговую травму, в то же время MEGA-PRESS GABA+ не выявляет эффекта. Также показано, что в различных областях головного мозга отношение сигнала ММ к GABA лежит в диапазоне 41–49% [5]. То есть большой сигнал ММ может маскировать малые изменения GABA в случае патологических изменений или нейростимуляции, и кроме этого нет данных, которые показывают, что это концентрация ММ сохраняется в этих случаях, поэтому важно измерять чистый сигнал ММ. Целью настоящей работы является получение сигнала ММ в зрительной коре головного мозга при помощи добавления предварительного насыщающего импульса (с короткой задержкой) или инвертирующего импульса (с длительной задержкой). Результаты работы в перспективе позволят исследовать влияние видеостимуляции на концентрацию ММ в зрительной коре.

В исследовании на МР томографе Philips Achieva dStream 3.0T с использованием РЧ катушки SENSE Head-16 приняло участие 3 здоровых испытуемых. Спектроскопический воксель размером 20×40×30 мм размещался в зоне зрительной коре головного мозга. Спектры регистрировались с помощью ИП MEGA-PRESS с параметрами: время эха TE = 68 мс (с макромолекулами — GABA+) и TE=80 мс (без макромолекул — GABA-) угол отклонения = 90°, ширина спектра = 2000 Гц, общее число накоплений NSA = 288. Для получения спектров GABA+ и GABA- накапливались две серии с разными ЧСИ: в первой серии (OFF-серии) ЧСИ на  $\delta_{GABA-}^{OFF}=1,5$  м.д.,  $\delta_{GABA+}^{OFF}=7,5$  м.д., во

второй серии (ON-серия)  $\delta_{GABA-}^{ON} = 1,9$  м.д.,  $\delta_{GABA+}^{ON} = 1,9$  м.д. В каждом случае серии вычитались друг из друга. Для подавления сигнала ГАМК и выделения ММ использовались разные предварительные импульсы (несущая частота  $\delta = 3$  м.д.):

- стандартный **преднасыщающий** импульс (presaturation) с произвольным углом насыщения, частотным сдвигом и окном, задержкой; параметры инвертирующего импульса: угол поворота (FA) = 180, задержка (TI) = 530 мс (с учетом длительности импульсов, подавляющих воду).
- **предварительный** импульс для научных исследований (research prepulse) с возможностью выбора формы импульса, их количества, FA, TI и длительности; параметры инвертирующего импульса: форма — блочная, FA = 180, длительность — 25 мс, TI = 525 мс. Параметры **насыщающего** импульса: FA=100, длит. — 25 мс, TI = 525 мс.

Спектр MEGA-PRESS (GABA-) без предварительного импульса **насыщения** представлен на рис. 1а. На аналогичном спектре с **насыщающим** импульсом (рис. 1б) видно, что суммарный сигнал на 3 м.д. подавлен хорошо. На спектре MEGA-PRESS (GABA+), рис. 1в, данный сигнал также не присутствует — сигнала ММ нет. На рисунке 2 приведены спектры, полученные при использовании инвертирующего prepulse-импульса: (prepulse+GABA-: рис 2а, prepulse+GABA+ рис 2б). Количественная обработка спектров не представляется возможной из-за плохо подавленного сигнала воды и дополнительных искажений из-за вычитания её остаточного сигнала.

На рисунке 3 приведены спектры, полученные при использовании инвертирующего presaturation-импульса: (presat+GABA-: рис 3а, presat+GABA+: рис 3б). В спектре presat+GABA- наблюдается подавление суммарного сигнала в области 3 м.д. (SNR = 1.4), в то время как в спектре presat+GABA+ есть доступный для обработки сигнал, относящийся к макромолекулам.

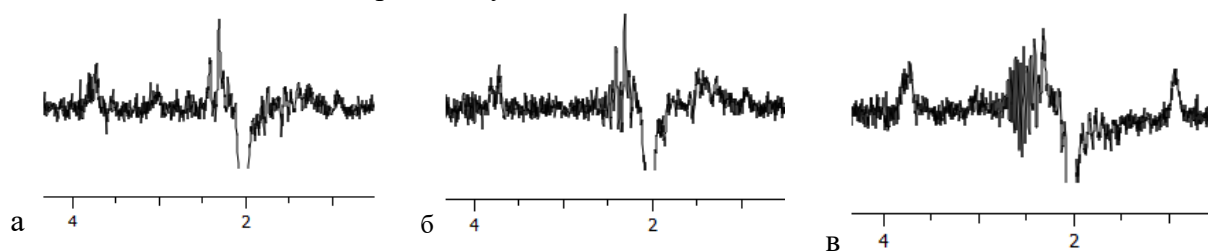


Рис. 1. а) Спектр MEGA-PRESS с подавлением макромолекул. б) Спектр MEGA-PRESS с подавлением макромолекул(б) и без подавления (в) с использованием prepulse-импульса FA = 100, TI = 50 мс.



Рис. 2. Добавление к стандартной MEGA-PRESS последовательности инвертирующего импульса с TI = 525 мс, без подавления ММ (а) и с подавлением ММ (б).

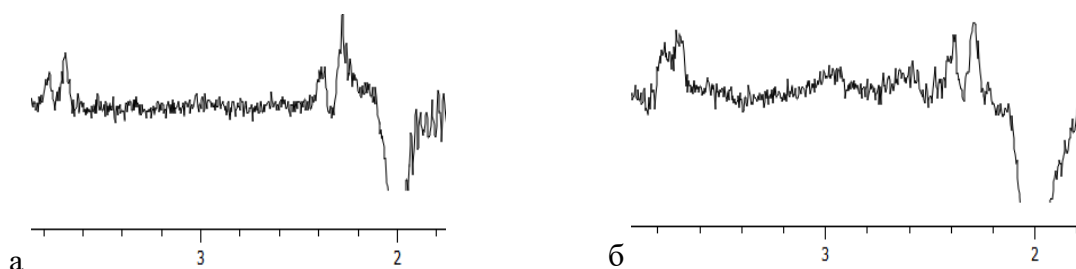


Рис. 3. Спектр MEGA-PRESS GABA- с предварительным инвертирующим presaturation-импульсом (TI = 530 мс); б) Спектр MEGA-PRESS GABA+ с предварительным инвертирующим presaturation-импульсом (TI = 530 мс);

По полученному результату применения насыщающего импульса с короткой задержкой (отсутствие сигнала макромолекул, рис. 1в) можно сделать вывод о недостаточном времени на T1 релаксацию (T1) для этого сигнала.

Полученные искажения в результате использования инвертирующего prepulse-импульса можно объяснить плохим подавлением воды из-за большого промежутка времени между подавляющей воду последовательностью (во временной диаграмме она расположена до prepulse-импульса) и основной последовательностью. Функционала клинического томографа недостаточно для компенсации эффектов изменения схемы последовательности и, соответственно, успешного подавления воды в данном случае.

Эти выводы явно устанавливают основные принципы получения сигнала макромолекул: время задержки между предварительным импульсом и основной последовательностью должно быть порядка сотен миллисекунд (для осуществления T1 релаксации MM), при этом последовательность импульсов, предназначенных для подавления воды, должна быть реализована непосредственно перед основной последовательностью. Этим принципам соответствует инвертирующий presaturation-импульс. С использованием этой методики по остаточному сигналу на 3 м.д. в спектре GABA- с предварительным импульсом (рис.3а) можно оценить качество подавления сигналов ГАМК и гомокарнозина. В то же время в аналогичном спектре GABA+ остаются только макромолекулы, поэтому эта методика в дальнейшем будет использована для оценки влияния видеостимуляции на концентрацию макромолекул в зрительной коре.

### Литература

1. De Graaf R. A. In vivo NMR spectroscopy: principles and techniques. – Wiley, 2019.
2. Mescher M. et al. NMR in Biomedicine. – 1998. Т. 11. №. 6. С. 266–272.
3. Rothman D. L. et al. Magnetic resonance in medicine, 1997. Т. 38. №. 6. С. 924–929.
4. Рост церебральной концентрации  $\gamma$ -аминомасляной кислоты у детей с легкой черепно-мозговой травмой в остром периоде по данным протонной магнитно-резонансной спектроскопии / П.Е. Меньщиков, Н.А. Семенова, Т.А. Ахадов и др. // Биофизика. — 2017. Т. 62, № 6. С. 1221–1231.
5. Shungu D. C. et al. NMR in biomedicine. 2016. Т. 29. №. 7. С. 932.

## ЗАВИСИМОСТЬ ВРЕМЕН ЖИЗНИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ СЕНСОРНОГО БЕЛКА SynHer3s ОТ Ph СРЕДЫ

Янтурина М.И.

*МФТИ (ГУ), Институт нано-, био-, информационных, когнитивных,  
социогуманитарных технологий, Москва, Россия  
E-mail: maryyant@mail.ru*

Изучение спектрально-кинетических характеристик зеленого флуоресцентного белка (GFP) и его гомологов представляет интерес для разработки внутриклеточных сенсоров pH на его основе. Так, с помощью сайт-направленного мутагенеза аминокислотных остатков на основе GFP были получены белки NuPer — флуоресцентный сенсор внутриклеточного пероксида водорода и SynHer3s — перспективный ратиометрический сенсор pH. Он обладает более интенсивным сигналом флуоресценции по сравнению с NuPer в клетках млекопитающих. SynHer3s имеет два максимума поглощения при 410 нм и 495 нм и максимум излучения флуоресценции при 525 нм. При увеличении pH интенсивность поглощения SynHer3s при 410 нм снижается, а на 495 нм возрастает, что делает возможным определение внутриклеточного pH по соотношению интенсивности флуоресценции при возбуждении на 410 и 495 нм, что может быть затруднительно *in vivo* из-за автофлуоресценции некоторых клеток особенно в районе 400 нм. Так же для картирования клеток по величине pH требуется последовательное получе-



ние изображений с различным возбуждением флуоресценции, что с одной стороны затрудняет исследование динамики внутриклеточных процессов, с другой стороны, уровень флуоресцентного сигнала сильно зависит от концентрации белка в клетке, что может приводить к невоспроизводимым соотношениям флуоресценции при разных уровнях экспрессии генов флуоресцентных белков.

Мы предположили, что pH может оказывать влияние на времена жизни флуоресценции SypHer3s. Для проверки этой гипотезы в работе использовали препараты SypHer3s в семи буферных растворах с pH 6.5–9.5 (шаг 0.5). Данная гипотеза так же была проверена с использованием живых клеток НЕК293 в том же диапазоне pH. Для определения времен жизни регистрировали мгновенные спектры флуоресценции при возбуждении образцов пикосекундными лазерами 405, 450 и 510 нм.

Было установлено, что при увеличении pH *in vitro* происходит двукратный рост длительности флуоресценции SypHer3s при возбуждении на 450 нм. При двухфотонном возбуждении флуоресценции SypHer3s *in vivo* аналогичная закономерность зависимости времен жизни от pH наблюдается при возбуждении 890 нм.

По результатам данного эксперимента был сделан вывод, что SypHer3s может быть использован для детектирования внутриклеточного pH методом микроскопии времени жизни флуоресценции (Fluorescence-Lifetime Imaging Microscopy, FLIM).

## СОДЕРЖАНИЕ

## БИОФИЗИКА

Моделирование динамики концентраций глюкозы и инсулина .....	121
Акифьев А.А., Кабак Е.В., Полина Г.Ю.	
Математическая модель фосфолипазы С $\zeta$ в сперматозоиде и яйцеклетке <i>Mus Musculus</i> .....	122
Табачник А.К.	
Стохастическая модель взаимодействия препарата эрибулин с микротрубочкой .....	123
Анисимов М.Н.	
Предсказание расположения нуклеосом методами машинного обучения .....	124
Афентьева Д. В.	
Связь иерархических структур белков с их функциями.....	124
Багрова О.Е.	
Молекулярное моделирование движения белков по микротрубочке в режиме ультрабыстрой силовой спектроскопии .....	126
Балакшина В. П., Гончар И. В.	
Механизмы кальциевой сигнализации в мезенхимальных стромальных клетках.....	127
Болдова А.Е.	
Оптические свойства пленок ZnO, допированных $La^{3+}$ .....	128
Борулева Е.А., Чудинова Г.К.	
Сопоставление структуры белков при помощи расстояния Фреше .....	129
Бурмистров П.А.	
Активация слуховой коры головного мозга речевыми и неречевыми стимулами .....	130
Варламов С.А.	
Исследование математической модели обратимой агрегации тромбоцитов методами нелинейной динамики.....	131
Васильев Г.А., Филькова А.А.	
Изучение полиметилсилескквиоксановых дендримеров 5–6 генерации с помощью малоуглового рентгеновского рассеяния .....	132
Великанова Д.С.	
Стохастическая модель взаимодействия микротрубочки и паклитаксела.....	134
Вовченко М.А.	
Исследование спектральных характеристик биомолекул мёда и содержащихся в нем полисахаридов...	135
Гаврилов С.А.	
Теоретическое определение механизма сборки ферментативного комплекса протромбиназы на поверхности фосфолипидных везикул.....	136
Ганцева А.Р., Ганцева Е.Р.	
Теоретическое определение механизма сборки ферментативного комплекса протромбиназы на поверхности тромбоцитов .....	137
Ганцева Е.Р., Ганцева А.Р.	
Применение спектроскопии ЭПР для исследования компонентов крови при проявлениях сердечно-сосудистой недостаточности.....	138
Грачев Д.И.	
Диффузия парамагнитных частиц в градиентном магнитном поле, создаваемом системой диаметрально намагниченных пар микропроводов .....	139
Гуревич А., Беклемишева А., Панина Л.	
Хиральные особенности самоорганизации дифенилаланиновых пептидных нанотрубок .....	141
Жулябина О.А.	
Измерение термодинамических характеристик растворов на основе глицерина методом адиабатической калориметрии .....	142
Иванова А.А., Симоненко Е.Ю., Прядун В.В., Васильев А.Н., Яковенко С.А.	

Мониторинг общего количества бактерий в фарше охлажденной форели после воздействия ускоренных электронов с энергией 1 МэВ.....	144
Черняев А.П., Авдюхина В.М., Близнюк У.А., Борщеговская П.Ю., Ипатова В.С., Леонтьев В.А., Семенова М.Н., Студеникин Ф.Р.	
Влияние димеризации белка EB1 на его взаимодействие с микротрубочками.....	145
Килина А.П.	
QM/MM диссоциация пары цитозинов опосредованных ионом серебра.....	146
Клюев П.Н., Рамазанов Р.Р.	
Изучение влияния лазерного излучения на всхожесть семян и рост растений.....	147
Коваль А.С.	
Роль гуаниновых квадруплексов в эпигенетической регуляции.....	148
Коновалов Д.Л.	
Кальциевая сигнализация в мышинных сперматозоидах.....	149
Коробкина Ю.Д.	
Спектры комбинационного рассеяния глицина и таурина.....	150
Крупина Н.В.	
Модель активации фактора Виллебранда гидродинамическим потоком.....	151
Кущенко Ю.К.	
Оценка изменения микробиологических и органолептических показателей охлажденной форели после обработки ускоренными электронами.....	152
Черняев А.П., Авдюхина В.М., Близнюк У.А., Борщеговская П.Ю., Ипатова В.С., Леонтьев В.А., Семенова М.Н., Студеникин Ф.Р.	
конформационные изменения Na,K-АТФазы, вызванных связыванием кардиотонических стероидов...	154
Локтева В.А.	
Молекулярно-динамический расчет взаимодействия кинетохронного комплекса NDC80 и микротрубочки.....	158
Лопанская Ю.Н.	
Количественный метод оценки хиральности в иерархичных структурах белков.....	159
Луценко А.О., Зуев К.А.	
Роль сероводорода в регуляции редок-статуса клеток бактерий <i>E. coli</i> .....	160
Мельникова Е. В.	
Выделение сигнала аспартата в протонных <i>in vivo</i> МР-спектрах головного мозга.....	161
Меньщиков П.Е.	
Цитоскелет как инструмент реализации хиральных соответствий в клетке.....	163
Муртазина А.Р., Малышко Е.В.	
Разработка метода таксономического анализа фитопланктона, основанного на регистрации сигнала переменной флуоресценции при мультиспектральном возбуждении.....	164
Никонова Е.Э., Тихонова Т.Н., Давыдов Д.А.	
Моделирование белок-липидных комплексов роторов АТФ-синтаз из <i>bacillus pseudofirmus</i> , <i>spinacia oleracea</i> и <i>enterococcus hirae</i> .....	165
Новицкая О.С., Буслаев П.И., Гуцин И.Ю.	
Воздействие радионуклида трития на люминесцентные бактерии.....	166
Ноговицына Е.И.	
Внутриклеточные механизмы активации интегринов тромбоцита сдвиговым потоком.....	167
Плетенев И.А.	
Воздействие постоянных магнитных полей различной напряжённости на жизнеспособность мононуклеарных клеток периферической крови человека и Т-лимфобластов клеточной линии <i>Jurkat</i> ..	168
Пшеничников С.Е., Шунькин Е.О., Малащенко В.В., Омелянчик А.С.	
Разработка измерительного устройства для исследования тепловых процессов при проведении полимеразной цепной реакции.....	170
Резник В.С., Круглов В.А., Петров А.И.	
Механизмы ионного гомеостаза тромбоцита.....	171
Рогатых Д.А.	
Исследование комплексообразования топотекана и гидратированного фуллерена C60 методом спектрофотометрического титрования.....	172
Сало В.А., Скуратовская И.В., Бучельников А.С.	

Взаимодействие нового полифункционального соединения 2-нитроксисукцината 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина с мембранами фосфатидилхолиновых липосом.....	174
Селезнёв Д.В., Полетаева Д.А., Файнгольд И.И., Котельникова Р.А.	
Хиральность в лекарственных препаратах .....	175
Семенова Е. В.	
Автоволновая модель формирования мегаполисов в представлении теории неоднородных активных сред.....	176
Семина А. Е.	
Применение наночастиц пористого кремния в качестве контрастирующих агентов в методе оптической когерентной томографии.....	177
Скобёлкина А.В., Кашаев Ф.В., Колчин А.В., Хиллов А.В., Куракина Д.А.	
Адаптация фотосинтетического аппарата у листьев <i>Tradescantia</i> контрастных экотипов к изменяющимся внешним условиям.....	179
Смирнов А.В.	
Сравнение структурных характеристик белка Dps в различных условиях методом малоуглового рентгеновского рассеяния для выявления возможного механизма взаимодействия с ДНК.....	180
Сошинская Е.Ю.	
Таксисы и автоволновая самоорганизация миксомицетов.....	181
Спирихина Л.Н.	
Оценка вклада белка-канала плазматической мембраны <i>Panx1</i> в активацию тромбоцитов крови.....	182
Степанян М.Г., Мартьянов А.А.	
Эндовазальная коагуляция варикозных вен с использованием двухмикронного лазерного излучения... 183	
Артемов С.А., Беляев А.Н., Бушукина О.С., Костин С.В., Ляпин А.А., Рябочкина П.А., Таратынова А.Д., Хрущалина С.А.	
Характеризация процесса агрегации тромбоцитов с помощью термодинамических потенциалов .....	184
Филькова А.А., Гарсон Д.А.К.	
Анализ вклада RyR в модель $Ca^{2+}$ — сигнальных путей астроцита.....	185
Фрицлер Я.В.	
Компьютерное моделирование адсорбции фактора фон Виллебранда к коллагену в потоке жидкости..	187
Цю Н. Г.	
Структурные исследования белка овечьего приона методом малоуглового рентгеновского рассеяния .	188
Шкода Е.А., Дадинова Л.А., Мельникова А.К., Сорокина С.А., Штыкова Э.В.	
Моделирование динамики домена A2 фактора фон Виллебранда при растяжении парой сил .....	188
Юркова Д. О.	
Измерение уровня макромолекул в головном мозге человека методом протонной магнитно-резонансной спектроскопии .....	190
Яковлев А.Н., Манжурцев А.В.	
Зависимость времен жизни флуоресценции сенсорного белка SupHer3s от pH среды.....	192
Янтурина М.И.	