

ФИЗТЕХ БИО

V МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ ФИЗТЕХБИО

29-30 апреля 2015 года
Московский физико-технический институт



СБОРНИК ТЕЗИСОВ

Оглавление

ФизтехБио 2015.

Рекордные показатели сессий V Международной конференции по медицинским технологиям и фармацевтике в МФТИ 7

Тезисы конференции 15

Сессия «Разработка инновационных лекарственных препаратов» 15

Лечебно-профилактические бактериофаги: литическая активность *in vitro*, особенности геномов, безопасность и эффективность при экспериментальных инфекциях
Воложанцев Н.В. 15

Фаготерапия как альтернативный путь борьбы с резистентными формами микробных патогенов

Марусич Е.И., Леонов С.В., Алешкин А.В., Воложанцев Н.В., Мирошников К.А. 16

Drosophila nervous system as a target of aging and anti-aging interventions
Moskalev A., Plyusnina E., Shaposhnikov M., Bgatova N., Omelyanchuk L. 17

Наночастицы меди — биоцидный препарат с пролонгированным сигнальным действием
Пилипенко П.Н., Балакин К.В., 18

Bringing the age of digital detection to medical imaging technology
Staf C. van Cauter 19

Сессия «Высокопроизводительное секвенирование и анализ геномных данных» 20

Функциональная геномика ангидробриоза: от организмов с уникальной устойчивостью к обезвоживанию к новым подходам в хранении биологического материала
Гусев О.А., Шагимарданова Е.И., Логачева М.Д., Кикавада Т. 20

Анализ стабильности генетической сети: связь старения, стрессовой устойчивости и пренебрежимого старения
Подольский Д.И., Молодцов И. А., Зенин А.А., Коган В.И., Тархов А.Е., Меньшиков Л.И., Шмуклер Р. Р. Дж., Федичев П.О. 22

OMICS методы диагностики в онкологии
Григорьев Д.Н., Хмелькова Д.Н., Кирюхина Н.А., Зверева С.Д., Серебряйская Т.С., Никольская Т.А. 23

Генофонд народонаселения Северной Евразии: новые возможности изучения благодаря полногеномному анализу Y-хромосомы
Балановский О.П., Альборова И.Э., Агджоян А.Т., Запорожченко В.В., Дибирова Х.Д., Кузнецова М.А., Схаляхо Р.А., Чухряева М.И., Балановская Е.В., Виллемс Р.А., Мустафин Х.Х. ...24

Алгоритмы и аппаратно-программный комплекс для решения задач диагностики и управления здоровьем
Крутько В.Н., Гундаров И.А., Донцов В.И., Смирнова Т.М., Потемкина Н.С., Мамиконова О.А., Пырву В.В. 25

Комплексный подход к разработке и внедрению высокопроизводительных методов анализа в клинической генодиагностике
Борейшо И.А., Павлов А.Е., Брагин А.Г. 26

Сессия: «Биофизика»	29
Трёхмерный структурный анализ биоматериалов при помощи сканирующей зондовой нанотомографии <i>Ефимов А.Е., Агапова О.И., Агапов И.И.</i>	29
Однонаправленный блок в сердечной ткани на границе между областями с различным направлением волокон <i>Кудряшова Н.Н., Селина Л.В., Орлова Ю.В., Казбанов И.В., Панфилов А.В., Агладзе К.И.</i>	30
Сессия: «Агробиотехнология в Российской Федерации»	32
Ускоренная «зеленая» селекция растений <i>Шумилина Д.В., Тураев А.</i>	32
ДНК-технологии для ускоренного создания селекционного материала растений с заданными свойствами: российские разработки и опыт применения <i>Карлов Г.И., Дивашук М.Г.</i>	33
Биотехнология сельскохозяйственных животных: направления исследований и перспективы <i>Зиновьева Н.А., Багиров В.А., Гладырь Е.А., Волова Н.А.</i>	34
Секвенирование генома вируса африканской чумы свиней для контроля и ликвидации заболевания <i>Колбасов Д.В., Малоголовкин А.С.</i>	35
Перспективы технологий обработки ускоренными электронами сырья растительного и животного происхождения <i>Будник С.В.</i>	37
Разработка инновационных препаратов для защиты растений <i>Дмитриева И.Г.</i>	38
Проблемы развития биопрепаратов <i>Вышелесский А.Б.</i>	39
Необходимость внедрения новых технологий для устойчивого развития сельского хозяйства РФ <i>Гапоненко А.К.</i>	40
Редактирование генома – прогрессивная форма селекции <i>Волчков В., Червоткина Т.</i>	41
Сессия: «IT в медицине и медицинское приборостроение»	43
Концепция разработки системы для лечения острой дыхательной недостаточности <i>Невзоров А.М., Мальгичев В.А., Шемакин С.Ю.</i>	43
Разработка технологии производства ¹³ C-препаратов, медицинских приборов и методик дыхательных тестов для ранней клинической диагностики заболеваний <i>Крымский М.И., Межевов В.С., Рогалин В. Е., Эльман А.Р.</i>	44
Доступ к большим архивам ЭКГ в среде WWW <i>Дроздов Д.В., Миронов Д.Н., Овасяпан Ю.А., Егоров А.И.</i>	45
Повышение точности измерения параметров носового дыхания <i>Кадников А.Ф., Лукьянов Г.Н., Егоров А.И., Темиразов Д.А.</i>	46
Сессия: «Нейротехнологии в России. Актуальное состояние и перспективы»	47



Неканонический афферентный синапс вкусовых клеток млекопитающих <i>Колесников С.С.</i>	47
MEG and EEG based neuroimaging of transient networks <i>Осадчий А.Е.</i>	48
Структурные и функциональные коннектомы головного мозга <i>Ушаков В.Л.</i>	49
Структурные и функциональные коннектомы головного мозга. Перспективные нейросетевые технологии распознавания образов в задачах детектирования <i>Шепелев И.Е.</i>	49
Как и зачем и генерируется тета-ритм в мозге <i>Мысин И.Е.</i>	50
Математическая модель нейронов и нейронных популяций как конечная форма представления данных электрофизиологических экспериментов <i>Чижов А.В.</i>	50
Детальное моделирование как связующий подход в изучении нейронных механизмов мозга <i>Васильков В.А., Киной В.Н., Тикиджи-Хамбурьян Р.А.</i>	51
Сессия молодых ученых	51
Разработка препарата бактериофагов для контроля внутрибольничных инфекций <i>Попова А.В., Мякинина В.П., Веревкин В.В., Красильникова В.М., Кисличкина А.А., Баннов В.А., Комбарова Т.И., Коробова О.В., Денисенко Е.А., Воложанцев Н.В., Борзилов А.И., Богун А.Г., Алешкин А.В., Светоч Э.А.</i>	51
Гидрофобные матрицы как подход модификации высвобождения амфолитной фармацевтической субстанции <i>Нифонтова Г.О.</i>	53
Идентификация человека по ЭКГ с использованием метрики Хаусдорфа в фазовом пространстве <i>Астапов А. А., Давыдов Д.В., Егоров А.И., Дроздов Д.В.,</i>	54
Церебральная оксиметрия: усовершенствованная методика оценки насыщения гемоглобина кислородом <i>Тарасов А.П., Егоров А.И., Давыдов Д.В., Дроздов Д.В.</i>	54
Геногеографический анализ гаплогруппы N1c в Северной Евразии (по данным полногеномного секвенирования и популяционного скрининга) <i>Агджоян А.Т., Чухряева М.И., Кузнецова М.А., Запорожченко В.В., Альборова И.Э., Дибирова Х.Д., Виллемс Р., Мустафин Х.Х., Балановская Е.В., Балановский О.П.</i>	56
Нерекombинирующие участки генома человека: от сиквенсов к филогениям высокого разрешения <i>Запорожченко В.В., Балановский О.П.</i>	57
Тезисы постерных докладов	58
Опыт фаг-опосредованного биопроектирования пищевых полуфабрикатов <i>Алешкин А.В., Рубальский Е.О., Ларина Ю. В., Киселева И. А., Афанасьев С.С., Ефимова О. Г., Зулькарнеев Э.Р., Гордеева Ю. В.</i>	58

Исследование функциональной активности липид-транспортирующего белка гороха посевного <i>Pisum sativum</i> L. <i>Богданов И.В.</i>	59
Исследование эффективности совместного применения конвенциональных антибиотиков и антимикробного пептида ареницина <i>Болосов И.А., Калашников А.А., Пантелеев П.В., Овчинникова Т.В.</i>	60
Компьютерные подходы к поиску новых малых молекул-агонистов рецептора глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1R) <i>Бушков Н., Аладинская А., Веселов М., Смирнова А., Чупров-Нетохин Р., Марусич Е., Леонов С.</i>	62
Хлорелла как модельная система для скрининга модуляторов роста растений <i>Волинчук П., Марусич Е., Чупров-Нетохин Р., Нескородов Я., Леонов С.</i>	63
Создание штамма-продуцента антитела к фактору некроза опухоли альфа <i>Воронина Е.В., Серегин Ю.А., Литвинова Н.А., Швец В.И., Шукуров Р.Р.</i>	65
Vascular network reconstruction for 1D hemodynamic simulations <i>Gamilov T., Ivanov Y., Pryamonosov R.</i>	66
Разработка клеточной модели оценки эффективности лечебного действия бактериофагов в борьбе с микробными патогенами <i>Гордеева Ю., Марусич Е., Попова А., Чупров-Нетохин Р., Леонов С.</i>	67
Исследование влияния динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) на конформацию и функциональные изменения молекул сывороточного альбумина <i>Гусева С.С.</i>	68
Получение самодиспергирующейся композиции пророксана и изучение ее свойств <i>Деникаева Ю.Р.</i>	70
Сравнительное изучение цитотоксических свойств бета-шпилечных антимикробных пептидов <i>Емельянова А.А., Калашникова М.Б., Кузьмин Д.В., Пантелеев П.В., Баландин С.В., Овчинникова Т.В.</i>	71
Особенности регистрации ЭКГ суточного мониторинга у пациентов с фибрилляцией предсердий <i>Ильин А.В., Кулешов А.П., Потеряхина А.В., Зарецкий А.П.</i>	72
Бактериофаг-опосредованный биопроектирование охлажденной рыбы <i>Зулькарнеев Э.Р., Киселева И.А., Ефимова О.Г., Алешкин А.В., Афанасьев С.С., Алешкин В.А., Галимзянов Х.М., Рубальский О.В., Лозовская М.В.</i>	75
Исследование свойств модульного нанотранспортера эмиттеров электронов Оже с модулем, обеспечивающим присоединение к ядерной ДНК <i>Цветкова А. Д., Камалетдинова Т.Р.</i>	77
Матрикс из рекомбинантного спидроина как инструмент для выращивания неонатальных кардиомиоцитов <i>Крашенинникова А.В., Тепленин А.С., Агладзе Н.Н., Агладзе К.И.</i>	78
Исследования включения пророксана в надмолекулярные комплексы разной структуры <i>Кудрявцева А.А.</i>	79



Биофармацевтические и технологические подходы к разработке офтальмологических гелей на примере геля эмоксипина <i>Лапик И.В., Анурова М.Н., Кречетов С.П.</i>	80
Эффекты β -каротина и фукоксантина на параметры продолжительности жизни <i>Drosophila melanogaster</i> и <i>Caenorhabditis elegans</i> <i>Лашманова Е., Плюснина Е., Марусич Е., Леонов С., Москалев А.</i>	81
Современный взгляд на методологические основы сравнительного теста кинетики растворения для твердых дозированных лекарственных форм <i>Львова А.А., Шохин И.Е., Малащенко Е.А., Медведев Ю.В., Болдина Е.Ю., Меньшикова Л.А., Комаров Т.Н.</i>	82
Изучение на модели <i>C. elegans</i> способности новых ингибиторов Р1ЗК к продлению жизни <i>Овчаренко Д., Марусич Е., Лашманова Е., Москалев А., Леонов С.</i>	84
Создание аналогов антимикробного пептида тахиплезина с повышенной селективностью действия <i>Пантелеев П.В., Овчинникова Т.В.</i>	86
Поиск и адаптация нанороботов и клеток <i>Режабек Б.Г.</i>	87
Влияния иммуностропных препаратов на состояние кислородзависимой бактерицидности нейтрофилов в фотометрическом НСТ тесте <i>Савилова А.Г., Огурцов Д.П., Добровольская Е.И.</i>	87
Моделирование в реальном времени: деформация мягких тканей <i>Саламатова В.</i>	89
Разработка клеточной модели для изучения патогенеза болезни Альцгеймера <i>Смирнова А. Н., Бушков Н.А., Чупров-Неточин Р.Н, Татарникова О.Г., Марусич Е.И., Бобкова Н.В., Леонов С.В.</i>	90
Анализ данных RNA-seq и <i>de novo</i> сборка транскриптома иглокожих <i>Снежкина А. В., Садригдинова А. Ф., Жикривецкая С., Смуров А., Москалев А. А.</i>	91
Поиск сайтов связывания ДНК-гиразы <i>Сутормин Д.А.</i>	92
Моделирование распространения возбуждения в синоатриальном узле сердца <i>Толстокоров А.С., Сюняев А.Р., Алиев Р.Р.</i>	94
Анализ влияния когнитивной нагрузки на мозговую активность человека <i>Шевчуков И. Г.</i>	95
Сегментация изображений и трёхмерная реконструкция для биомедицинских задач <i>Данилов А.А., Юрова А.С., Василевский Ю.В., Ефимов И.Р.</i>	96
Распространение волн возбуждения в гетерогенной культуре кардиомиоцитов <i>Галайдыч О.В., Цвеляя В.А., Агладзе Н.Н., Агладзе К.И.</i>	97
Фотоконтроль потенциал-зависимых ионных каналов, расположенных в мембране неонатальных кардиомиоцитов крыс, с помощью азобензен триметиламмоний бромида (АзоТАБ) <i>Гайко О.Н., Фролова Ш.Р.Агладзе К.И.</i>	99



ФизтехБио 2015

Рекордные показатели сессий V Международной конференции по медицинским технологиям и фармацевтике в МФТИ

29 и 30 апреля в МФТИ состоялась V Международная конференция ФизтехБио, организованная Биофармкластером «Северный» и Центром живых систем МФТИ. Более 400 делегатов стали участниками научных сессий и дискуссий. Более 70 спикеров выступили с докладами. 54 постерных доклада и выставочная экспозиция дополнили программу конференции. Рекордные для ФизтехБио показатели посещаемости и интереса доказали актуальность развития направления живых систем в МФТИ и растущий мировой тренд XXI века по интеграции технических университетов в процесс внедрения инноваций в мировое здравоохранение.

С приветственным словом к участникам конференции обратился ректор МФТИ Николай Кудрявцев. В своем выступлении он сделал акцент на том, что такое бурное развитие живых систем в МФТИ стало возможным благодаря энтузиазму выпускников МФТИ и научных коллективов института, а также объявил о том, что строительство нового биофармацевти-



ческого корпуса МФТИ закончено и он готовится к открытию осенью 2015 года. В корпусе разместятся лаборатории, опытно-промышленные производства лекарственных препаратов, учебные и конференционные аудитории.

Президент правления Центра живых систем МФТИ (ЦЖС МФТИ) Андрей Иващенко представил краткий отчет о деятельности ЦЖС МФТИ. В частности, он отметил, что в 2014 году общий бюджет

Центра превысил 650 млн. рублей, что соответствует уровню полноценного исследовательского института. Впечатляющие показатели развития ЦЖС МФТИ — это далеко не предел. В 2015 году стоят задачи по переезду в новый корпус и увеличению количества лабораторий и сотрудников. В дальнейшем, по словам Андрея Иващенко, в планах создание вместе с партнерами нескольких технопарков вокруг Физтеха, в том числе, технопарка по производству субстанций. «Мы также мечтаем о создании исследовательского университетского госпиталя. Очень важно, чтобы линия внедрения была полной, начиная от научных лабораторий, клинических исследований и до пилотного производства», — отметил он.



Открытие конференции продолжили сообщения почетных гостей ФизтехБио 2015. Заместитель Министра образования и науки Российской Федерации Людмила Огородова рассказала о государственных инициативах в области нейротехнологий, заместитель руководителя ФМБА России Виктор Назаров сделал доклад о перспективах персонализации медицины в России, а директор направления «Молодые профессионалы» Агентства стратегических инициатив Дмитрий Песков представил цели и задачи Национальной технологической инициативы (НТИ). По его словам, НТИ нацелена на создание новых инновационных рынков. В рамках НТИ будет реализован ряд больших государственных программ, направленных на развитие стратегически важных отраслей и создание новых рынков.

Позднее к дискуссии «Национальные технологические инициативы в области живых систем: место российской науки в системе здравоохранения» присоединились заместитель директора Департамента развития

фармацевтической и медицинской промышленности Министерства промышленности и торговли Российской Федерации Дмитрий Колобов, декан колледжа Университета Южной Калифорнии Чарльз МакКенна (США) и Президент правления Центра живых систем МФТИ Андрей Иващенко. Модератором обсуждения стал главный редактор газеты «Фармацевтический вестник» Герман Иноземцев. Вместе гости ответили на вопросы зала о взаимодействии науки и индустрии, месте государственного участия в поддержке фундаментальных и прикладных исследований в области фармацевтики и медицинских технологий.

«Фармацевтика — это сегодня динамично растущий рынок в России. Строится фармацевтическая промышленность, но программа научной фармацевтики пока только разрабатывается как раз в ответ на заказ растущих бизнес-компаний и Министерство образования и науки предпринимает соответствующие инициативы. Ведущие университеты России сегодня участвуют в разработке программы подготовки кадров для фармацевтической и биотехнологической промышленности. Пока в отрасли нет оценки менеджмента качества, жизненного цикла биотехнологического продукта, практически нет подготовленных кадров. Физтех принимает в этом очень активное участие. Основная задача Биофармкорпуса и Биофармкластера, которые строятся — в том числе заказчиком у этих корпусов и инфраструктурных подразделений выступает Минобрнауки — это создание базовых кафедр с бизнесом, чтобы образовательные программы разрабатывались в соответствии с новыми подходами и заказом бизнеса», — подчеркнула Людмила Огородова.

Позднее заместитель Министра образования и науки РФ провела в МФТИ выездное совещание рабочей группы специалистов по нейротехнологиям.



«Наш единственный шанс не в том, чтобы бизнес замечал оказание части социальных услуг, которые оказывало государство, а в том, чтобы он создавал передовые продукты, которые можно экспортировать. Мы обязаны создать рынок, на котором компании будут получать деньги на мировых рынках, в том числе, на рынке стран БРИКС, и использовать их для улучшения ситуации в российском здравоохранении», — отметил Дмитрий Песков.



Официальная церемония открытия конференции завершилась сообщением о новых соглашениях о сотрудничестве между МФТИ и партнерами: ректор МФТИ Николай Кудрявцев и профессор Чарльз МакКенна (Charles E. McKenna) из колледжа Dornsife Университета Южной Калифорнии (США) обменялись документами о совместных образовательных проектах и научных исследованиях. Позднее стало известно, что подписано и соглашение о сотрудничестве МФТИ с Алтайский государственным университетом, целью этого документа является устранение разрыва между результатами научной деятельности в области биомедицинских исследований и применением этих результатов на практике, то есть для коммерциализации разработок и вывода высокотехнологичных продуктов на рынок.

Деловую программу конференции продолжила сессия о новых научных направлениях Биофармкластера «Северный» и Центра живых систем МФТИ, которую провел исполнительный директор Олег Корзинов. С докладом по экстремальной медицине выступил Главный врач Клинической больницы №1 Управления делами Президента РФ и заведующий новой для ЦЖС МФТИ лаборатории специальной медицинской техники, технологии и фармацевтики Валерий Бояринцев. Сообщение по разработкам в сфере микро- и нанофлюидики представил Вадим Говорун, заместитель директора по научной работе ФГБУН НИИФХМ ФМБА РФ и заведующий лабораторией системной биологии МФТИ. Марк Олейник, Председатель совета директоров нового участника БФК «Северный» компании ООО «МЕДСТАРНЕТ РУС» рассказал о совместном с МФТИ проекте по созданию медицинской системы в области обработки медицинских данных пациентов и алгоритма помощи принятия решения для врачей. Сообщения по развитию агробиотехнологий на Физтехе представил Алишер Тураев, научный руководитель одноименной лаборатории в МФТИ. Заместитель директора по научной работе ФГБУ «Научного центра акушерства,

гинекологии и перинатологии им. Академика В.И. Кулакова» Дмитрий Дегтярев сделал презентацию о потенциальных проектах для сотрудничества в области медицинского приборостроения в нейротехнологиях.

По окончании сессии Олег Корзинов торжественно вручил сертификаты новым участникам Биофармацевтического кластера «Северный». В состав кластера в 2015 году вошли 13 новых организаций: биомедицинские компании, научно-исследовательские институты и университеты, специализирующиеся в основном на производстве и разработке лекарственных препаратов, медицинских приборов и изделий. Среди новых участников Биофармкластера «Северный»: ЗАО «НЕЙРОКОМ», Научно-исследовательский институт органических полупродуктов и красителей (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»), ООО «ДОНА-М», Первый Московский государ-





ственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России), ФГБНУ «Научный Центр Неврологии», ООО «КОНМЕТ», ЗАО «Медицинские Технологии Лтд», ООО «Ростхим», ООО «КОНСТЭЛ», ООО «М.А.Стер», ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский и испытательный институт медицинской техники» Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения (ФГБУ «ВНИИИМТ» Росздравнадзора), ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр Минздрава РФ».

Научную программу конференции ФизтехБио составили сессии:

- **«Разработка инновационных лекарственных препаратов»**, где особое внимание было уделено изучению бактериофагов и перспективам создания лекарств нового поколения;

- **«Высокопроизводительное секвенирование и анализ геномных данных»**, где ученые, составляющие элиту российского биоинформатического сообщества, обсудили новые подходы лечения генетических и онкологических заболеваний, а также современные методы анализа в клинической генодиагностике;

- **«Биофизика»**, посвященная проблемам исследования биофизических свойств тканей и органов;

- **«IT в медицине и медицинское приборостроение»**, на которой представители отечественных медицинских компаний представили свои проекты и разработки в области медицинского приборостроения.



Две специальные сессии были проведены по новым для Центра живых систем МФТИ направлениям. Это сессии «Агробиотехнологии в Российской Федерации» и «Нейротехнологии в России. Актуальное состояние и перспективы». На сессии по агробиотехнологиям обсудили перспективы внедрения биомедицинских технологий в агропромышленный комплекс страны, в частности, свой доклад о наиболее приоритетных направлениях развития с точки зрения Минсельхоза РФ представил директор Департамента научно-технической политики и образования Министерства сельского хозяйства РФ Григорий Сенченя. О запуске новых программ в «Сколково» в области



сельскохозяйственных наук и возможности принять участия в ближайших конкурсах рассказал Кирилл Каем, вице-президент и исполнительный директор кластера биомедицинских технологий фонда «Сколково».

Все научные сессии конференции ФизтехБио пользовались большим успехом, и несмотря на то, что многие из них проходили параллельно, нашли свою аудиторию среди специалистов. Многие ученые отмечают высокий уровень организации конференции, а также тот факт, что в этом году на ФизтехБио им удалось завязать перспективные знакомства для будущих научных коллабораций.

Благодарим за неоценимый вклад в работу V Международной конференции ФизтехБио: Правительство Московской области, Министерство образования и науки Российской Федерации, Министерство промышленности и торговли Российской Федерации, Корпорацию развития Московской области, Инновационный территориальный кластер ФИЗТЕХ XXI, Некоммерческое партнерство «Физтех-союз», участников Биофармацевтического кластера «Северный».

До встречи на конференциях Биофармкластера «Северный»!



Тезисы конференции

Сессия «Разработка инновационных лекарственных препаратов»

Лечебно-профилактические бактериофаги: литическая активность *in vitro*, особенности геномов, безопасность и эффективность при экспериментальных инфекциях

Воложанцев Н.В

ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии
и биотехнологии, Оболенск

nikvol@obolensk.org

В условиях кризиса антибиотикотерапии возникает очевидная необходимость поиска альтернативных способов борьбы с бактериальными инфекциями. Одним из таких подходов является использование для профилактики и лечения инфекционных заболеваний бактериофагов - вирусов, инфицирующих исключительно бактериальные клетки.

Для эффективного внедрения фагов в антимикробную терапию необходимо проведение поисковых и прикладных исследований, направленных в каждом случае на реализацию как минимум двух практических задач: 1) создание большой и разнообразной коллекции литических бактериофагов и коллекции эпидемических, клинически значимых бактериальных патогенов человека, постоянно пополняемой новыми клиническими изолятами; 2) получение характеристик литических бактериофагов, по которым можно оценить пригодность того или иного фага для использования в качестве лечебного препарата, таких как литическая активность и спектр антибактериального действия, параметры литического взаимодействия фаг-бактерия, структура генома, вплоть до определения полной нуклеотидной последовательности фаговой ДНК, устойчивость к химическим и физическим факторам внешней среды, технологичность наработки препарата и, безусловно, его эффективность в модельных экспериментах на лабораторных животных.

В ГНЦ ПМБ созданы коллекции бактериофагов, активных против *Escherichia coli*, включая шига-токсин продуцирующие и энтеропатогенные штаммы, *Salmonella enterica* серотипов *Typhimurium*, *Enteritidis* и *Infantis*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* и др, а также постоянно пополняемые коллекции бактериальных штаммов, в том числе выделенных в клинических условиях. По результатам экспериментальных исследо-



ваний около 30 бактериофагов рекомендованы для включения в состав антибактериальных препаратов.

В докладе приводятся экспериментальные данные по изучению литических свойств, особенностей геномов и антибактериальной активности (на моделях инфекционных заболеваний у лабораторных животных) бактериофагов, активных против шига-токсин продуцирующих *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* и *Clostridium perfringens*.

Фаготерапия как альтернативный путь борьбы с резистентными формами микробных патогенов

*Е.И. Марусич*¹, *С.В. Леонов*¹,

*А.В. Алешкин*², *Н.В. Воложанцев*³, *К.А. Мирошников*⁴,

¹ Московский Физико-Технический Институт, Долгопрудный

² ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва

³ ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск,

⁴ ИБХ РАН, Москва

mei@pharmcluster.ru

В настоящее время одной из серьезных проблем здравоохранения является устойчивость бактериальных возбудителей инфекционных заболеваний к антибиотикам. Ранее эффективные препараты теряют свою силу, а медицина возвращается к ситуации, которая существовала в эру «до антибиотиков». В результате такие инфекционные заболевания имеют более длительное течение и нередко приводят к летальному исходу. Наиболее остро проблема бактериальной антибиотикорезистентности стоит в стационарах лечебных учреждений, особенно в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), где ежедневно приходится сталкиваться с проблемой возникновения тяжелых внутрибольничных инфекций у пациентов в ранний пост-операционный период или в стадии реабилитации.

В условиях постоянного появления новых штаммов бактерий, устойчивых к большинству антибиотиков, возникает очевидная необходимость поиска альтернативных антибактериальных агентов, к которым могут быть отнесены бактериофаги — вирусы, инфицирующие исключительно бактериальные клетки, сама природа которых определяет перспективу их использования для уничтожения патогенных бактерий. Фаготерапия, имеющая почти 100-летнюю историю своего развития в России и странах Восточной Европы, в настоящее время переживает всплеск интереса в использовании ее как в медицине, так и в ветеринарии и экологической безопасности во всем мире.

Следует отметить, что потенциал бактериофагов как лечебных

средств до конца еще не исследован, и их практическое применение в медицине имеет определенные ограничения. Эти ограничения в применении фагов в качестве антимикробных лекарственных средств в странах Западной Европы и США связано в основном с тем, что:

- Недостаточно фармакологических данных о бактериофагах, как о терапевтических агентах, включая их токсикологические характеристики и научные доказательства эффективности терапевтического действия фаготерапии.

- Научно не обоснована безопасность фаготерапии, включая иммуногенность и аллергенность препаратов бактериофагов.

- Отсутствуют методы и средства характеристики биологических свойств фаговых штаммов, составляющих лечебно-профилактический препарат бактериофагов (механизм действия, специфическая литическая активность, диапазон действия, концентрация в препарате, стабильность);

В докладе проводится анализ последних успехов в применении фаготерапии в медицинской практике. Рассматривается разработанная инновационная клеточная тестовая система *in vitro*, позволяющая на молекулярном уровне изучать стадии инфекционного процесса, как при острой, так и при хронической инфекции, а также количественно оценить биологические свойства фаговых штаммов, составляющих основу терапевтических препаратов на основе бактериофагов.

Drosophila nervous system as a target of aging and anti-aging interventions

Moskalev A.^{1,2}, Plyusnina E.², Shaposhnikov M.², Bgatova N.³, Omelyanchuk L.⁴

¹Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Dolgoprudny, Russia

²Laboratory of Molecular Radiobiology and Gerontology, Institute of Biology, Komi Science Center, Ural Branch of RAS, Syktyvkar, Russia,

³Research Institute of Clinical and Experimental

Lymphology Siberian Branch of RAMS, Novosibirsk, Russia

⁴Institute of Molecular and Cellular Biology, Novosibirsk, Russia

E-mail: amoskalev@list.ru

Nervous system regulates homeostasis and adaptation to environmental changes of a whole organism, thus deregulation of nervous processes accelerates aging. The aging process in different models is associated with progressive degeneration of the nervous system and progression of age-related neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's disease, and amyotrophic lateral sclerosis. The neurodegeneration

also characterizes the progeroid syndromes, including Hutchinson-Gilford syndrome and Werner's syndrome. *Drosophila melanogaster* is a good model organism to study age-related neurodegenerative changes. Enrichment in mutants with neurodegeneration among flies with shortened lifespan has been reported. On the contrary, overexpression of many pro-longevity genes in *Drosophila* nervous system may postpone the neurodegeneration and prolongs life.

We investigated the relationship between D-GADD45 overexpression in the brain and *Drosophila* lifespan, resistance to oxidative, genotoxic and thermal stresses as well as starvation. In most cases, flies with constitutive and conditional D-GADD45 overexpression in the nervous system were long living and more stress-resistant than ones without overexpression. We also revealed that overexpression of D-GADD45 in *Drosophila* neurons leads to a postponed manifestation of histological and ultrastructural features of age-dependent neurodegeneration, such as decrease in the packing density of neurons, increasing the degree of neuron cytoplasmic vacuolization, and morphological defects of mitochondrial cristae.

This work was supported by RFBR grant N 14-04-01596 and the grant of the President of Russian Federation MD-1090.2014.4.

Наночастицы меди — биоцидный препарат с пролонгированным сигнальным действием

Пилипенко П.Н., Балакин К.В

Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

Уникальные бактерицидные свойства наночастиц меди в последние годы привлекают пристальный интерес исследователей во всем мире [1]. В данной работе, на светящемся штамме бактерии *E.coli*, показано, что наночастицы меди действительно обладают большей бактерицидной активностью по сравнению с эквивалентными (0,1 мМ) количествами её ионов рис.1-а. Этот эффект нивелируется антиоксидантом — пероксидазой хрена (АО). Обнаружено интенсивное образование H_2O_2 в растворах наночастиц меди, имеющее максимум в области физиологических рН в присутствии фосфат ионов. Предложена схема реакций образования H_2O_2 , объясняющая полученную зависимость.

Колоссальная роль H_2O_2 как вторичного мессенджера множества процессов клеточной регуляции позволяет предполагать наличие у наночастиц меди сигнального действия на различные биологические системы. В частности ранаоживляющее действие наночастиц меди [2], вероят-

imaging humans. These highly performing and compact imaging technologies can be translated to the clinic so that in the near-term, more and better research in medical imaging at lower costs can be employed to increase our knowledge about disease processes and therapy management with the long-term goal of improving the health of the global population.

For Nuclear Medicine applications, direct detection of radio-pharmaceuticals with CZT, APD and Silicon Photomultipliers will be discussed to enable nuclear imaging with better performance and at lower cost. In addition, new innovative digital single-photon array detectors combined with orbiting lasers will be highlighted to illustrate that for many applications, radioisotope tracers can be replaced by non-isotopic optical probes while delivering 3D tomographic image quality characteristics similar to those of nuclear imagers. In addition, the use of digital detectors makes it possible to replace X-ray CT systems by magnetic resonance imagers, which are liquid helium-free and self-shielded so that they can be used in standard laboratory facilities.

During the presentation, we will highlight the commercial and research implications of this digital detection technology revolution, and illustrate with real-world application examples the effect that these techniques may have on accelerating our knowledge about disease processes and the discovery of potential treatments for new therapeutic targets.

Сессия «Высокопроизводительное секвенирование и анализ геномных данных»

Функциональная геномика ангидробиоза: от организмов с уникальной устойчивостью к обезвоживанию к новым подходам в хранении биологического материала

Гусев О.А.¹, Шагимарданова Е.И.¹, Логачева М.Д.², Кикавада Т.З

¹Казанский Федеральный Университет, Казань

²Институт Физико-Химической биологии имени А.Н. Белозерского, МГУ, Москва

³Институт Агро-биологический Наук, Цукуба, Япония

oleg@cryptobio.com

Личинки насекомого — африканской хирономиды *Polypedilum vanderplanki* (Chironomidae, Diptera) в процессе эволюции развили способность выживать при полной (>99%) потере воды в организме. В состоянии полного обезвоживания (ангидробиоз) метаболизм в личинках полностью прекращается и восстанавливается за 30-60 минут после возвращения в водную среду. В обезвоженном состоянии личин-

ки способны выдерживать сверхвысокие дозы ионизирующей радиации (до 10 000 Гр), колебания температур с амплитудой более 200°C и условия космического вакуума. В настоящее время реализуется международный проект, ставящий целью использования знаний о генетических механизмах ангидробиоза в биомедицинских целях. На первом этапе работы был расшифрован геном *P. vanderplanki* и методами сравнительной геномики и транскриптомики выделены участки генома, несущие гены, специфичные для данного вида насекомых и активно участвующие в формировании «молекулярного щита» — комплекса биохимических и генетических процессов обеспечивающих сохранность клеточных компонентов при обезвоживании. Было обнаружено что в геноме хирономид существует “дополнительный” набор генов защитных генов, включающий белки теплового шока, антиоксиданты и изоаспартил-метилтрансфразы, активация которых происходит только во время обезвоживания. В настоящее время с использованием эмбриональной клеточной культуры хирономид получена возможность индуцирования ангидробиоза в клетках, изначально чувствительных к потере воды. При этом количество генов-участников процесса формирования молекулярного щита в таких клетках значительно ниже, чем таковое, полученное при анализе личинок, что свидетельствует о тканеспецифичной природе устойчивости к обезвоживанию. Второй этап исследований включает выделение минимального набора генов, наличие продуктов которых обеспечивает успешное формирование защиты против обезвоживания. Кроме того, реализуется блок работ по синтезу чужеродных белков в клетках хирономид с последующим обезвоживанием и длительным хранением полученных белковых продуктов без потери их функциональности.

Проект осуществляется при поддержке федеральной программы международного многостороннего и двустороннего сотрудничества. Соглашение 14.584.21.0002



Анализ стабильности генетической сети: связь старения, стрессовой устойчивости и пренебрежимо старения

Подольский Д.И.¹, Молодцов И.А.^{2,3}, Зенин А.А.³, Коган В. И.^{2,3},
Тархов А.Е.³, Меньшиков Л.И.³, Шмуклер Р. Р. Дж.⁴, Федичев П. О.^{2,3}

¹ Harward Medical School, USA

² Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

³ Quantum Pharmaceuticals, г. Москва

⁴ University of Arkansas for Medical Sciences, USA

podolsky@mit.edu

У большинства живых организмов, включая человека, старение ведет к экспоненциальному возрастанию смертности с возрастом, в первую очередь — от возраст-зависимых заболеваний. Старение, как правило, сопровождается постепенным нарушением и потерей важных функций организма, в частности, способности к размножению и регенерации. Однако для некоторых организмов подобная зависимость смертности от возраста нарушается и такие организмы называются пренебрежимо стареющими. У пренебрежимо стареющих животных смертность не зависит от времени, также у них отсутствуют признаки снижения репродуктивных и регенеративных функций с возрастом. Недавние исследования таких пренебрежимо стареющих животных, как голый землекоп и долгоживущий морской ёж, показали, что уровни экспрессии генов этих организмов не изменяются с возрастом, в отличие от большинства других животных. Помимо этого было обнаружено, что ткани голого землекопа крайне устойчивы к различным видам генотоксического стресса.

Мы численно проанализировали связь между стабильностью генетических регуляторных сетей, смертностью и процессами старения, построили стохастическую модель старения, описывающую возраст-зависимые изменения в профилях экспрессии генов и обнаружили, что генетические сети большинства живых организмов нестабильны. Со временем нестабильность вызывает экспоненциальный рост количества изменений в регуляции работы генов, что, в свою очередь, приводит к смерти. Однако, если системы репарации достаточно эффективны, генетическая сеть может быть достаточно стабильной, чтобы количество ошибок регуляции, как и смертность, оставались независимыми от времени. Мы применили предложенную нами модель для анализа возраст-зависимых транскриптомов модельных организмов и вывели форму закона Гомперца, связывающую старение и смертность с нестабильностью генетической сети. В то же время, предложенная нами модель объясняет независимую от возраста смертность, наблюдаемую у пренебрежимо ста-

реющих животных.

Представленная работа открывает новые возможности анализа эффектов старения в современных -омных данных. Мы предлагаем новый подход для определения биомаркеров старения и разработки терапий против старения.

OMICS методы диагностики в онкологии

Григорьев Д.Н., Хмелькова Д.Н., Кирюхина Н.А., Зверева С.Д., Серебряйская Т.С., Никольская Т.А
Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

Введение. Наша группа разработала диагностическую систему «ОнкоГеноТест», которая использует анализ генетических (110 генов) и экспрессионных (250 генов) изменений в опухоли пациента, и дает заключение о наиболее подходящем курсе лечения данного пациента противоопухолевыми препаратами.

Программное обеспечение (ПО) нашей системы «ОнкоГеноАналайзер» соответственно выстроено для анализа 110 и 250 генов. С целью увеличения гибкости нашего ПО мы разработали версию для анализа экспрессии неограниченного числа генов.

Доклинические исследования этой версии были проведены, используя данные различных опухолей, доступные через систему Gene Expression Omnibus (GEO). Нашей целью были малоизученные гены, вовлеченные в иммунный ответ на метастатическую инвазию опухолевых клеток в лимфоузлы.

Методы. Из 276 файлов серии GSE12630 (Monzon et al, микрочип Affymetrix GeneChip® Human Genome U133A, 13212 генов) было выбрано 30 CEL файлов биопсий лимфоузлов с метастазами эпителиальных опухолей (карцином): карцинома мочевого пузыря (7 файлов), аденокарцинома желудка (5), карцинома легкого (5), карцинома щитовидной железы (4), аденокарцинома молочной железы (2), карцинома почки (2), аденокарцинома простаты (2), аденокарцинома кишечника (1), аденокарцинома поджелудочной железы (1), карцинома печени (1).

5 CEL файлов биопсий здоровых лимфоузлов были сгенерированы в нашей лаборатории, используя микрочип Human Gene 2.1 ST Array Strip (27654 генов). Результирующие 35 CEL файлов были обработаны расширенной версией программы «ОнкоГеноАналайзер».

Результаты. Эпителиальный сигнал карцином был оценен с помощью биомаркера эпителия гена E74-like factor 3 epithelial-specific (ELF3), и сигнал лимфоузла с помощью биомаркера лимфатической ткани B-cell



CLL/lymphoma 6 (BCL6). Средние интенсивности сигнала для ELF3 и BCL6 в здоровом узле были $13,5 \pm 1,62$ и $508,4 \pm 205,9$ световых единиц (СЕ), соответственно, что составляет 2,5% and 97,5% от общего сигнала; и в метастатических узлах $77,0 \pm 69,1$ СЕ и $244,1 \pm 150,1$ СЕ, что составляет 24% and 76% от общего сигнала. Была определена группа из 495 генов, относящихся к геной онтологии “immune response” и разница в их экспрессии (РЭ) между метастатическим и здоровым лимфоузлом. Значительные изменения ($-2 > \text{РЭ} > 2.0$ и поправка Бонферрони $P < 1,01 \times 10^{-4}$) были выявлены для 170 генов (75 генов с повышенной и 95 генов с пониженной экспрессией).

Анализ этих генов с помощью Pathway Studio определил «Процесс дифференциации Th17 клеток» как наиболее задействованный в иммунном ответе на инвазию метастатических клеток карциномы ($P = 5,57 \times 10^{-10}$). Этот процесс включает в себя 73 гена, экспрессия 20 из которых была значительно изменена в наших исследованиях.

Выводы. В настоящих исследованиях мы определили 10 генов-кандидатов из биологического процесса дифференциации Th17 клеток, которые с высокой долей вероятности вовлечены в иммунный ответ на инвазию метастатических клеток карциномы в периферические лимфоузлы. Недавний обзор в журнале Nature Review Immunology продемонстрировал значительную роль Th17 в регуляции опухолевого процесса (Zou et al, Nat Rev Immunol. 10(4): 248–256), что подтверждает результаты полученные с помощью программы «ОнкоГеноАнализер». Это, в свою очередь, демонстрирует возможность использования нашего расширенного ПО не только для клинической диагностики, но и для научных исследований.

Генофонд народонаселения Северной Евразии: новые возможности изучения благодаря полногеномному анализу Y-хромосомы

Балановский О.П.^{1,2,3}, Альборова И.Э.¹, Агджоян А.Т.^{1,2,3}, Запороженко В.В.², Дибирова Х.Д.^{2,3}, Кузнецова М.А.², Схаляхо Р.А.^{2,3}, Чухряева М.И.^{2,3}, Балановская Е.В.², Виллемс Р.⁴, Мустафин Х.Х.¹

¹ФГОУ ВПО «Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный,

²ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН, Москва

³ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

⁴Эстонский Биоцентр, г. Тарту, Эстония

Изучение генофонда человека — бурно развивающаяся и востребованная область биологии, что подтверждается количеством статей в ведущих журналах. За последнее десятилетие полногеномный анализ стал мощным методом обнаружения новых информативных генетиче-

ских маркеров, позволяющих более детально выявлять структуру генофонда. Это особенно актуально для Y-хромосомы, с ее максимальной межпопуляционной изменчивостью и наибольшей информативностью для анализа структуры генофонда, исторических миграций и этногенеза, т.е. прошлого и настоящего генофонда населения России.

В конце 2013 года компании FamilyTreeDNA и BGI независимо создали технологии Y-capture, оптимальные по соотношению «цена-информативность» и потому даже более перспективные для изучения генофонда, чем полные геномы человека. Лидирующие коллективы мира тотчас приступили к анализу генофондов на основе Y-capture. В докладе будут представлены результаты таких исследований, проводимые нашим коллективом. Мы разработали программное обеспечение для получения невырожденных таблиц генотипов и построения филогенетических деревьев, что позволило поставить биоинформационный анализ на поток. Также мы определили скорость мутирования для протяженных последовательностей Y-хромосомы, провели анализ скоростей, полученных другими исследователями и предложили консенсусную скорость мутирования. Эти наработки были применены к изучению трех гаплогрупп Y-хромосомы, для которых проведен филогенетический и картографический анализ. Благодаря этим исследованиям получены новые обширные массивы данных по фактической структуре генофонда народонаселения Северной Евразии и новые сведения о вероятной истории формирования региональных генофондов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Благотворительного фонда имени святителя Григория Богослова и Российского научного фонда.

Алгоритмы и аппаратно-программный комплекс для решения задач диагностики и управления здоровьем

*Крутько В.Н., Гундаров И.А., Донцов В.И.,
Смирнова Т.М., Потемкина Н.С., Мамиконова О.А. Пырву В.В.*
Институт системного анализа РАН, 1-й Московский медицинский университет
им. И.М. Сеченова, Национальный геронтологический центр

В настоящее время исключительным интересом в развитых странах пользуется тема здоровья и активного долголетия. В России эти важнейшие характеристики качества жизни является одними из главных критериев социально-экономического развития страны. Широкое внедрение современных биомедицинских технологий, основанных на последних достижениях нано-индустрии, геномики, протеомики и др. «омик» позволяет как диагностировать состояние тысяч глубинных процессов и параметров организма, так и целенаправленно влиять на



них. Однако, при этом еще более актуальной становится задача диагностики и управления итоговым результатом всех этих воздействий — главными макроиндикаторами здоровья и активного долголетия: продолжительность жизни; риск смерти; риски хронических заболеваний – основных причин смерти; уровень функциональных резервов, главными из которых являются уровни физической и психической работоспособности; уровень реального износа (постарения) организма — биологический возраст. Определение этих характеристик весьма важно не только для интегральной оценки и прогноза состояния организма, но и для выработки оптимальных схем лечебных, профилактических и оздоровительных мероприятий, а также для текущего мониторинга их эффективности.

Авторами была поставлена и решена задача разработки алгоритмов оценки вышеназванных показателей и создания интегрированного аппаратно-программного комплекса (АПК) для определения этих показателей на практике. Созданный комплекс алгоритмов базируется на данных мировой литературы, а также на уникальных разработках авторов, в ряде аспектов превосходящих мировые аналоги. Более конкретно, АПК позволяет оценивать следующие характеристики:

- экспресс-оценка рисков опасных для жизни заболеваний: кардио-, cerebro-, онко-, всех причин с прогнозом на 10 лет;
- оценка резерва здоровья и прогноз общего риска смерти на 15 лет с учетом данных измерений центральной и мозговой гемодинамики, получаемых с помощью реоанализатора;
- оценка образа жизни человека и выявление факторов, неблагоприятных для здоровья;
- оценка биологического возраста организма в целом и его основных функциональных систем;
- оценка уровня физического здоровья и оптимальных показателей артериального давления, пульса и частоты дыхания при тренировочных нагрузках;
- оценка психической работоспособности: восприятия, оперативной памяти, устойчивости мышления, переключения и распределения внимания, оперативного и логического мышления, скорости и точности реагирования;
- оценка уровня стресса и возможностей адаптации к нему;
- оценка качества питания на индивидуальном и групповом уровнях, а также автоматическая оптимизация диет с учетом индивидуальных характеристик.

В настоящее время АПК внедрен и эффективно используется в ряде медицинских учреждений.

Комплексный подход к разработке и внедрению высокопроизводительных методов анализа в клинической генодиагностике

Борейшо И.А., Павлов А.Е., Брагин А.Г.
Parseq Lab, г. Санкт-Петербург

В динамически развивающихся областях современной науки, использующих высокоэффективные методы получения данных, один запуск прибора, такого как секвенатор нового поколения, приводит к получению массива данных в десятки и сотни гигабайт. Для работы с этими данными предъявляются новые требования как к алгоритмам и программам, использующимся для анализа, так и к программно-аппаратным средствам менеджмента и хранения геномных данных. Каждая из обозначенных проблем представляет собой самостоятельную задачу, решение которой требует коллегиальной работы как специалистов профильной области (биологов и медиков), так и специалистов по работе с большими данными и инженеров-разработчиков.

Одновременно производители высокопроизводительного оборудования, используемого для получения данных биологической природы, не уделяют должного внимания созданию инфраструктурных решений для надежного и безотказного хранения информации. Компьютерное оборудование, поставляемое в комплекте с приборами, как правило, предназначено лишь для оперативного просмотра и первичной обработки данных, полученных за считанное число запусков прибора. Вопрос же длительного хранения файлов предлагается решать путем покупки облачных сервисов, что рождает целый комплекс технических вопросов, связанных с передачей огромных объемов информации в хранилища и отсутствием полного контроля над политиками безопасности, реализуемых провайдером услуги. Альтернативой является создание собственных вычислительных мощностей путем приобретения выделенных серверов для хранения данных, характеризующихся высокой емкостью и полным контролем над информацией.

Снижение стоимости получения геномных и постгеномных данных способствует росту интенсивности их использования в медицинских приложениях, в частности, в рамках проведения медицинских исследований, диагностике, при разработке и определении эффективности лекарственных средств. Проблема работы с большими массивами медицинских данных приобретают особую остроту, что связано со вступлением в России в сентябре 2015 года в силу дополнений к закону о персональных



модели данных и включение в неё системы метаданных обеспечивает совместимость с существующими или возникающими стандартами и форматами. Расширение спектра используемых типов данных и операций над ними может быть выполнено путём введения пользовательских типов, возникающих в связи с появлением новых задач и развития предметной области.

Сессия: «Биофизика»

Трехмерный структурный анализ биоматериалов при помощи сканирующей зондовой нанотомографии

Ефимов А. Е., Агапова О. И.,
ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И.Шумакова»
Минздрава России, Москва
e-mail: antefimov@gmail.com;

Современные исследования и разработки новых биологических и биосовместимых материалов для тканевой инженерии и регенеративной медицины требуют характеристики наномасштабных особенностей структуры и морфологии материалов с применением техник микроскопии высокого разрешения. Информация о наномасштабной трехмерной организации сложных систем биоматериалов обеспечивает лучшее понимание существенных параметров мультимасштабных пористых систем и распределений наноконпонентов в объеме и их влияние на макроскопические физические и биологические свойства материалов. Сканирующая зондовая микроскопия (СЗМ) может рассматриваться как техника неразрушающего анализа поверхности биоматериалов. Для того, чтобы дополнить СЗМ возможностями трехмерного анализа в объеме, мы разработали новую методологию сканирующей зондовой нанотомографии (СЗНТ). Этот метод основан на комбинации СЗМ с ультрамикротомом или криоультрамикротомом и может быть использован для серийной томографии мягких полимерных и биологических материалов в нативном состоянии. Трехмерные структуры объектов в объеме реконструируются при помощи интеграции серий последовательных изображений поверхности после ультратонких срезов. Интегрированный инструмент позволяет выполнять прямые СЗМ-измерения поверхности образца непосредственно после каждого среза ножом ультрамикротомом, таким образом разрешение по глубине ограничено только



минимальной толщиной срезов и может достигать 10 нм. Технология СЗНТ успешно применяется для исследований трехмерных структур биологических материалов и разного рода нанокомпозитов и наногибридных материалов, например, таких как композиты жидкие кристаллы/квантовые точки, полимер/нанотрубки, полимер/графен.

В данной работе мы представляем новые результаты СЗНТ-исследований таких систем биоматериалов, как биоразлагаемых трехмерных матриц на основе рекомбинантного спидроина rS1/9 (аналога спидроина 1, белка паутины паука *Nephila clavipes*) и натурального фиброина из шелка шелкопряда (*Bombyx mori*). Одной из главных целей настоящего исследования являлась количественная оценка размеров, плотности и степени взаимосвязанности нанопор в объеме матриц. Параметры пористости матриц на микро- и наноуровне оказывают существенное влияние на эффективность регенерации тканей; взаимосвязанная структура необходима для однородного распределения клеток в матрицах и эффективного обмена питательными веществами и отвода продуктов метаболизма. Нами было установлено, что нанопористость заметно сильнее развита в матрицах из рекомбинантного спидроина (24% по сравнению с 0,5%) с высокой степенью взаимосвязанности пор и перколяции, что может оказывать положительный эффект на пролиферацию клеток *in vivo* и регенерацию тканей. Дальнейшее развитие методов СЗНТ позволит получать уникальную наномасштабную информацию о трехмерной структуре биомедицинских наноматериалов и систем доставки препаратов, биологических объектов и других бионанокомпозитных материалов.

Данная работа выполнена в рамках проекта ФЦПР 2014-2020 Минобрнауки России (Соглашение № 14.604.21.0001, уникальный идентификатор проекта RFMEFI60414X0001). Мы благодарим В. Г. Богуша за предоставленные образцы рекомбинантного спидроина.



Однонаправленный блок в сердечной ткани на границе между областями с различным направлением волокон

Кудряшова Н.Н.¹, Селина Л. В.¹, Орлова Ю. В.², Казбанов И. В.³, Панфилов А. В.³, Агладзе К.И.¹

¹Московский физико-технический институт, Долгопрудный

²Institute of Integrated Cell-Material Sciences (iCeMS), Kyoto, Japan

³Department of Physics and Astronomy, Ghent University, Ghent, Belgium

e-mail address: kudryashova.nina@gmail.com

На сегодняшний день не подвергается сомнению тот факт, что строение сердечной ткани оказывает существенное влияние на её функциональные свойства. Нарушения структуры ткани могут привести к возникновению патологического замкнутого контура, в котором может существовать циркулирующая волна возбуждения. К зарождению такой волны приводит однонаправленный блок, который разрушает симметрию распространения возбуждения в сердце. Целью данного исследования была разработка компьютерной модели, описывающей прохождение волной возбуждения границы между областями с различной анизотропией. В качестве предельного случая были рассмотрены две области с ортогональными направлениями волокон. Как в эксперименте, так и в моделировании было показано, что блок наблюдается при переходе от распространения поперёк волокон к распространению вдоль волокон.

Для описания наблюдаемого эффекта были использованы две модели: модель ФитцХью-Нагумо, описывающая возбудимые среды в целом, и в частности, сердечную ткань, а также детальная ионная модель желудочкового кардиомиоцита человека, разработанная Тен Тюссер и Панфиловым в 2006 году. Было показано, что резкое ускорение волны при пересечении границы может приводить к несоответствию стока и истока и гибели волны. Также, детальная модель предсказывает, что при ишемии блок может возникать при двукратном ускорении волны после границы, в то время как скорости вдоль и поперёк волокон в сердце могут отличаться в десять раз. Таким образом, граница между областями с различным направлением волокон может провоцировать аритмии.

Однако модели возбудимой среды не дают исчерпывающего описания изучаемой системы, так как игнорируют дискретную природу сердечной ткани. Ранее было показано, что высокочастотная стимуляция приводит к блоку распространения возбуждения вдоль волокон раньше, чем поперёк. Следовательно, данный эффект может играть важную роль в образовании однонаправленного блока на исследуемой границе наряду с эффектом несоответствия стока и истока и требует разработки соответствующей дискретной модели сердечной ткани, детально описывающей природу анизотропии распространения волн возбуждения.



Сессия: «Агробиотехнология в Российской Федерации»

Ускоренная «зеленая» селекция растений

Шумилина Д.В., Тураев А.,

Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

dsh@pharmcluster.ru

Современное растениеводство включает в себя три основных направления: традиционное, экологически чистое и с использованием генномодифицированных растений. Каждое из направлений имеет свои плюсы и минусы и на продукцию каждого из них имеется спрос. В Российской Федерации пока не разрешено возделывание трансгенных растений в коммерческих целях, поэтому современное сельское хозяйство может включать в себя традиционную схему возделывания культур и экологически чистую. Для любого из направлений возделывания с/х культур основой является применение качественных семян, характеристики сортов которых полностью удовлетворяли бы запросам как производителей, так и потребителей готовой продукции.

Для успешного развития отечественного сельского хозяйства необходимо обеспечение растениеводов качественными семенами. На сегодняшний день семена таких экономически важных культур, как подсолнечник, кукуруза, соя, картофель, до 90% — иностранного производства. Иностранные сорта, как правило, характеризуются отличным качеством семян, но зачастую урожай, получаемый с их использованием, в РФ ниже, чем урожаи в стране-импортёре семян, что объясняется неприспособленностью данных сортов к климатическим условиям России.

В лаборатории агробиотехнологий МФТИ ведётся разработка технологий, которые позволят провести импортозамещение семян многих ключевых культурных растений в РФ. В российских селекционных институтах в основном применяют традиционные схемы селекции, которые очень длительны и требуют больших трудовых затрат. Зарубежные селекционные компании пользуются технологией ускоренной селекции, которая базируется на двух составляющих, это применение инбредных линий, полученных *in vitro* методом культивирования незрелой пыльцы (андрогенез) или неопылённых семязпочек (гиногенез) из которых можно получить двойные гаплоиды (DH) за одно поколение и использование молекулярного маркирования. Для всех с/х культур, создание инбредных линий для скрещивания и последующей селекции является ключевой задачей, требующей наибольших временных и финансовых затрат. По-

лучение инбредной линии в традиционной селекции проводится путём самоопылений и отбора однотипных растений и занимает от 8 до 12 лет в зависимости от вида растения. С использованием культуры *in vitro* микроспор этот процесс можно сократить до 1 года (Touraev et al. 2001). Принцип метода заключается в развитии растений из гаметных клеток (пыльца, семяпочки), полученные растения несут одинарный набор хромосом, т.е. являются гаплоидными, далее с использованием веществ, нарушающих деление клеток, хромосомный набор у гаплоидных растений удваивают, в результате чего получают удвоенные гаплоидные растения (DH) за одно поколение, которые характеризуются 100% гомозиготностью и могут быть сразу вовлечены в селекционный процесс (Snape et al. 1986). Другим направлением «зелёной» селекции является создание линий растений, несущих естественную устойчивость к гербицидам, что может способствовать созданию российских схем применения гербицидов в совокупности с сортами, несущим устойчивость к ним.

Таким образом, используя богатые базы генотипов культурных и диких растений, имеющихся в РФ, новейшие биотехнологические разработки, поддержку государства и агрохолдингов, возможно создание сортов и гибридов с/х культур, которые обеспечат страну экологически чистой и экономически выгодной продукцией.

ДНК-технологии для ускоренного создания селекционного материала растений с заданными свойствами: российские разработки и опыт применения

Карлов Г.И., Дивашук М.Г.,

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.Тимирязева, Москва

karlov@timacad.ru

При создании сортов и гибридов сельскохозяйственных культур селекционер сталкивается обычно со следующими проблемами:

Для отбора генотипа по заданному признаку необходима большая расщепляющаяся популяция;

Необходимо дождаться нужного поколения (F5, F6);

Сложно проводить отбор в популяции по нужному признаку, если его проявление зависит от условий окружающей среды;

Чаще всего приходится ждать до поздних этапов онтогенеза растений, чтобы провести отбор по признаку;

Трудно проводить накопление генов, например устойчивости, так как сложно провести отбор генов в присутствии уже существующих (Gupta and Varshney, 2000). Селекционный процесс для однолетних куль-

тур затягивается до 10, а для двулетних до 20 лет.

Использование ДНК технологий позволяет значительно сократить затраты труда, ускорить и удешевить селекционный процесс, а также значительно сократить время создания сортов и гибридов сельскохозяйственных культур. В докладе нами продемонстрированы возможности молекулярных биотехнологий для направленного создания селекционного материала растений с заданными свойствами. Эффективность применения таких методов зависит от каждого конкретного случая и напрямую связана с возможностью ускорения селекционного процесса. Показано, что стратегия применения должна основываться на надежности, эффективности, информативности и взаимодополняемости различных подходов, а также базироваться на достижениях феномики, протеомики, структурной и функциональной геномики и биоинформатики. Опыт разработки и успешного применения таких технологий в России будет рассмотрен на примере зерновых (пшеница, тритикале) и овощных (томат, огурец, лук и др.) культур.

Биотехнология сельскохозяйственных животных: направления исследований и перспективы

Зиновьева Н.А., Багиров В.А., Гладырь Е.А., Волова Н.А.

ВИЖ им. Л.К. Эрнста, Московская область, Подольский район, п. Дубровицы

Потеря биоразнообразия определена в качестве одного из вызовов для России, а низкая эффективность сельскохозяйственного производства и, в частности, животноводства рассматривается как одна из угроз для развития страны. Разработка и внедрение современных биотехнологий является одним из эффективных инструментов решения вышеназванных проблем.

Приоритетными направлениями исследований в области биотехнологии сельскохозяйственных животных являются генные и геномные технологии, биотехнологии репродукции, клеточные технологии и технологии биоинженерии.

Проблематика исследований в области ДНК-технологий охватывает вопросы создания ДНК-банков, изучения генома, идентификации и последующего использования в селекции генов и участков генома, обуславливающих повышенную продуктивность, фертильность, устойчивость к заболеваниям, продуктивное долголетие, разработки и внедрения систем идентификации и элиминации наследственных аномалий.

Исследования в области биотехнологий репродукции племенного скота и птицы включают разработку способов сохранения генетических

ресурсов *ex situ*; создание криоколлекций генеративных клеток основных видов сельскохозяйственных животных и птицы: крупного рогатого скота молочных и мясных пород, овец, коз, лошадей, кур, гусей, пушных зверей, а также представителей дикой фауны; создание новых селекционных форм сельскохозяйственных животных с использованием аллелофонда диких видов; изучение репродуктивного старения.

Работы в области клеточных технологий ориентированы на совершенствование технологий получения эмбрионов сельскохозяйственных животных *in vitro*, разработку эффективных технологий клонирования эмбрионов животных, в том числе с использованием генетически модифицированных кариопластов.

В области биоинженерных технологий важная роль отводится методическим аспектам совершенствования технологий трансгеназа применительно к объектам сельскохозяйственного назначения, созданию различных типов трансгенных животных: с измененным обменом веществ, биореакторов, доноров внутренних органов, устойчивых к заболеваниям, и моделей для трансляционной медицины. Перспективы дальнейшего развития данного направления связаны с применением новых эффективных методов трансгеназа на основе сайт-специфических эндонуклеаз (в частности, системы CRISPR/CAS9).

Секвенирование генома вируса африканской чумы свиней для контроля и ликвидации заболевания

Колбасов Д. В., Малоголовкин А.С.
Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии Российской академии сельскохозяйственных наук, поселок Вольгинский Владимирской области
kolbasovdenis@gmail.com

Африканская чума свиней (АЧС) — одно из самых опасных септических вирусных заболеваний животных семейства *Suidae*. В связи с тем, что против этой болезни не разработано эффективных и безопасных средств лечения и профилактики, единственным методом борьбы с вирусом является депопуляция восприимчивых животных в очаге инфекции и на прилегающей территории. Огромные экономические потери от возникновения АЧС складываются из запрета на перемещение любой животноводческой продукции в неблагополучном регионе и карантинных мероприятий. По состоянию на 10.04.2015 года на территории Российской Федерации в период 2007-2015 гг. зарегистрировано 737 случаев болезни, в том числе



в популяции диких свиней — 335, в популяции домашних свиней — 371 и инфицированные объекты — 31.

Возбудитель болезни — ДНК-содержащий вирус, род *Asfivirus*, семейство *Asfarviridae*. Геном вируса представлен двухцепочечной ДНК размером 170 - 190 тысяч пар. Основные различия между изолятами вируса сосредоточены в правых и левых областях генома, замыкающихся тандемными инвертированными повторами. Анализ центральной варибельной части генома позволяет генотипировать изоляты вируса АЧС. Сегодня известно 22 генотипа вируса и более 8 сероиммунологических типов.

Все Российские изоляты вируса АЧС принадлежат к высоковирулентному II генотипу (реф.шт. Грузия/2007). Однако, среди изолятов вируса, выделенных в 2012-2015 гг наблюдаются генетические изменения в различных участках генома вируса. Следует отметить, что биологическая значимость обнаруженных генетических изменений остается дискуссионным вопросом. Несмотря на активное изучение вируса АЧС в России и за рубежом, GeneBank располагает всего 12 последовательностями полного генома вируса, что осложняет проведение исследований вирусной эволюции.

Результаты секвенирования фрагментов генома вируса АЧС в настоящее время служат для изучения молекулярной эпидемиологии возбудителя. Например, исследование межгенных участков (I329L/I73L) среди изолятов позволило выявить генетические кластеры, образованные двумя различными вариантами вируса, и изучить их филогеографию. Однако вопросы эволюционной динамики вирусной популяции и поиска иммунологически значимых эпитопов являются до конца не решенными.

Несмотря на то, что эксперименты по созданию эффективной вакцины против АЧС до настоящего времени остаются безуспешными, ключевым аспектом к решению проблемы могут стать результаты сравнительного анализа полногеномного секвенирования штаммов и изолятов вируса АЧС разного географического и временного происхождения, обладающих различными иммунобиологическими свойствами.



сырья растительного и животного происхождения

Будник С. В.,

ООО «Теклеор», г.Долгопрудный, Россия
sbudnik@tecleor.com

По данным Всемирной торговой организации, мировые потери сельскохозяйственного сырья и пищевых продуктов оцениваются почти в 30% всего произведенного объема продовольствия. Это означает, что огромное количество ресурсов потрачено впустую.

Наиболее острые проблемы сохранения сырья и обеспечения его биобезопасности, требующие быстрого решения это:

- повышение сохранности скоропортящихся овощей, фруктов, рыбы, мяса, птицы и увеличение сроков их хранения в охлажденном состоянии;
- предупреждение развития микрофлоры и плесневых грибов, приводящей к образованию в продуктах опасных микотоксинов.
- предотвращение порчи насекомыми зерна, круп и повышение сохранности заложенных на длительное хранение корнеплодов и овощей.
- исключение развития сальмонелл, листерий в рыбе, мясе, птице и полуфабрикатах.

При современном состоянии разработки радиационной техники метод обработки ускоренными электронами стал наиболее универсальным, экономически выгодными и безвредным способом решения проблем консервации среди конкурирующих методов.

Социальный эффект внедрения технологии:

- Препятствует распространению аллергических реакция и патологий, опасных кишечных инфекций и новых инфекционных штаммов, в том числе эпидемических;
- Снижает риск раковых заболеваний, вызванных развитием канцерогенов (устраняет причины образования микотоксинов, в том числе в детском питании);
- Обеспечивает доступность качественных продуктов питания во всех ценовых категориях, в том числе в сегментах социального питания, полноценного питания людей с ослабленным иммунитетом и работающих в особых условиях;
- Способствует созданию дополнительной добавленной стоимости для продукции малых и средних предприятий, что значительно повышает их конкурентоспособность и открывает экспортный потенциал.

Экологический эффект внедрения технологии:

- Внедрение технологии приводит к снижению потенциально



опасных примесей и уменьшению выбросов озоноразрушающих газов;

- Позволяет перерабатывать некондиционные непищевые сельскохозяйственные продукты и сырье с минимальными затратами ресурсов и с минимальной экологической опасностью, получать при этом ценные продукты различного промышленного назначения.

Разработка инновационных препаратов для защиты растений

Дмитриева И.Г.,

ЗАО «Исследовательский Институт Химического Разнообразия, г. Химки

Мой доклад обязан своим появлением двум фактам:

— Постановлением Правительства Российской Федерации от 15 апреля 2014 г. № 315 утверждена Государственная программа развития сельского хозяйства на 2013-2020 годы.

— Введено продуктовое эмбарго в августе 2014 года.

Развитие отрасли растениеводства — стратегическая задача, стоящая в Программе, и поддержка отрасли химическими средствами защиты отечественного производства — безопасными, эффективными, с низкой нормой расхода — та задача, в решении которой «ИИХР», как научно-практическая организация с 25-летним опытом работы в области живых систем, видит приложение для своих знаний и навыков.

При анализе доступной статистики по рынку пестицидов выявлено, что в натуральном выражении продукты импортного и отечественного производства на нем представлены почти в равных долях, но вопрос в том, что можно называть «продуктами российского производства», т.е. какова глубина передела. А в ценовом выражении импорт превалирует, и крупнейшими экспортерами в РФ являются Китай и Франция.

В продуктовой структуре пестицидов 67 % составляют гербициды, и — по 16 % инсектициды и фунгициды с родентицидами, 1 % (с тенденцией к росту) – PPP.

Потребность в PPP обусловлена тем, что в РФ более 70% земель - зона рискованного земледелия. Поэтому стоит задача: повышение урожайности и качества продукции за счет повышения стрессоустойчивости растений.

Схема поиска «лекарств» для растений и лекарств для человека схожи:

— создание компьютерной модели и скрининг *in silico* (более 1.5 млн соединений доступно в коллекции ИИХР)

— первичный *in vitro* скрининг (например, на модели прорастания

табачной пыльцы) — МФТИ

- вторичный скрининг на специфическую активность
- химическая оптимизация структуры (hit-to-lead)
- разработка технологии получения ДВ
- разработка препаративной формы
- регистрация, производство, продвижение.

Есть несколько примеров успешно реализованного скрининга — РРР ЗАО «Агросинтез»: Оксикарбам, Этамон, Цитодеф.

Но не обязательно сразу браться за разработку инновационного препарата — даже реализация одной стадии получения препарата на собственном производстве — это уже шаг к импортзамещению, и «ИИХР» готов свой опыт в разработке фармсубстанций использовать для разработки СЗР. Дорогу осилит идущий!

Проблемы развития биопрепаратов

Вышелесский А.Б.
ООО «Научно производственное предприятие «Биосинтез», Москва
avishellesskiy@mail.ru

В связи с возрождением сельского хозяйства и планами правительства на развитие и расширение импортозамещения особенно актуальны становятся вопросы агробиотехнологии. Именно биотехнология способна в кратчайшие сроки дать резкий толчок развитию АПК.

1. В растениеводстве.

Широко и успешно применялись препараты для обогащения обедневших почв азотом и фосфором на основе (*Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megaterium*). Эти препараты действуют комплексно, стимулируя не только рост и созревание, но и стимулируя иммунитет растений, большую устойчивость к изменениям окружающей среды, отгоняют болезнетворные микроорганизмы и т.д.

Очень большая задача — борьба с грибными поражениями растений — тоже решается с использованием биотехнологических препаратов.

2. В кормопроизводстве.

Огромная проблема на пути развития кормопроизводства — отсутствие сбалансированности кормов по белкам и т.д. Эта задача также решается путём обогащения кормов белками, аминокислотами. Вопрос: где взять такое количество белков и аминокислот? Ответ лежит на поверхности — это отходы пивных производств. Отработанные пивные дрожжи можно использовать как сырьё для автолиза и получения прекрасных белковых присадок к кормам.



С помощью биотехнологии можно решать тяжелейшие проблемы утилизации отходов птицефабрик и свиноферм, улучшать условия труда работников, связывая выделения аммиака в навозе, рекультивации почв после пестицидов и т.д. Но огромным тормозом на пути развития этих направлений лежит подписанный ещё Б.Н. Ельцином ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЗАКОН от 19.07.97 N 109-ФЗ «О БЕЗОПАСНОМ ОБРАЩЕНИИ С ПЕСТИЦИДАМИ И АГРОХИМИКАТАМИ».

Этот закон существенно ограничивает возможности развития биотехнологии в сельском хозяйстве и делает невозможным развитие мелких и небольших биотехнологических предприятий. Для небольших предприятий пройти регистрацию в Минсельхозе — невыполнимая задача (потратить несколько миллионов рублей и ждать процесс несколько лет).

По сути все работы, в которых можно легко получить положительный результат и дать развитие предприятиям АПК, заблокированы данным законом. Мы имеем парадокс: государство стимулирует развитие биотехнологии, сводя к минимуму сертификацию продукции, и тут же Минсельхоз ставит жирный крест, заставляя регистрировать любые биотехнологические препараты для АПК.

Необходимость внедрения новых технологий для устойчивого развития сельского хозяйства РФ

Гапоненко А. К.,

Института биологии развития им. Н.К.Кольцова РАН, Москва
akgaponenko@gmail.com

В современных условиях российские сельхозпроизводители не могут позволить себе оказаться в зависимости от семян, производимых компаниями США. Глобальное потепление наступает, и многие районы, ранее считавшиеся благоприятными для посевов пшеницы, становятся все более засушливыми. Так, Крым по условиям увлажнения относится к засушливой зоне, причем часть почв Крыма засолена. Для Крыма, Поволжья, Оренбуржья и других регионов надо создавать отечественные сорта пшеницы и других культур, способные плодоносить в условиях недостатка влаги и засоленности. Поэтому необходимо создавать отечественные ГМ-сорта пшеницы и ГМ-гибриды сахарной свеклы, кукурузы и других культур, устойчивых к таким факторам среды, как засуха, засоление, экстремальные температуры, болезни и насекомые. Россия не может оставаться в стороне от применения инновационных технологий в области современного сельского хозяйства. Все ведущие мировые державы выбрали для себя этот путь, а сейчас их примеру следуют развивающиеся страны и страны с переходной экономикой.



Сорта нового поколения, устойчивые к комплексу абиотических и биотических стрессов, можно создать с помощью генной инженерии, поскольку в геномах важнейших сельскохозяйственных культур нет необходимых генов устойчивости к гербицидам и насекомым. Засуха, засоление, экстремальные температуры, патогены и насекомые ограничивают продуктивность растений, препятствуют полному раскрытию их генетического потенциала.

Нами созданы и запатентованы эффективные системы трансформации пшеницы, подсолнечника и сахарной свеклы, разработаны национально-значимые инновационные проекты создания нового поколения отечественных сортов пшеницы, подсолнечника и сахарной свеклы, осуществление которых способно повысить качество зерна российской пшеницы, масла подсолнечника и рентабельность производства сахара из отечественного сырья. Для практического применения систем генетической модификации важнейших сельскохозяйственных культур требуется использование генов, кодирующих устойчивость к засухе, засоленности и другим стрессам. Такие гены выделены и предоставлены нам нашими коллегами из университета Джавахарлала Неру, Нью-Дели, Индия. При надлежащем финансировании мы можем реализовать представленные здесь проекты и одновременно готовить отечественные кадры в этих наукоемких областях для модернизации АПК России.

Редактирование генома — прогрессивная форма селекции

Волчков П^{1,2,3}, Червоткина Т.³

¹Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

²ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, г. Москва

³БФУ им И. Канта, г. Калининград

Научные, экономические и социально-политические события и достижения последних десятилетий кардинально трансформировали инвестиционную ситуацию в области R&D агротехнологий — фирмы частного сектора стали главными игроками в разработке новаторских технологий для сельского хозяйства во всем мире. Появление биотехнологии, укрепление прав интеллектуальной собственности, в частности, в области сельскохозяйственных инноваций, глобальное расширение рынков сельскохозяйственного производства и изменение законодательной базы являются основными факторами, способствующими привлечению частных инвестиций в агротех R&D в мире. ERS (Economic Research Service), основное аналитическое агентство в области сельского хозяйства США, опубликовало данные о расходах на глобальные исследования и разработки в следующих сельскохозяйственных областях исследований: семена сельскохозяйственных культур и биотехнологии,



химические средства защиты растений, синтетические удобрения, сельскохозяйственная техника, охрана здоровья животных, разведение животных и генетика, питание животных, ограничив области исследований периодом с 1994 года. Результаты показали, что доля частных инвестиций, направляемых на R&D технологии сельского хозяйства, увеличилась более чем на 40 процентов (учитывая поправку на инфляцию) за этот период.

Современные методы молекулярного клонирования и переноса генов и, как следствие, модификация генома животных, растений, а также микроорганизмов рубца желудка коров, химические и биологические методы очистки и предобработки кормов для животных для улучшения их питательной ценности, иммунодиагностика и иммунопрофилактические препараты и вакцины являются реальностью уже сегодня. Биотехнология предлагает беспрецедентные возможности для повышения продуктивности сельского хозяйства и защиты окружающей среды. Основные направления в биотехнологических исследованиях в настоящее время направлены на решение неотложных проблем сельского хозяйства, проблем сегодняшнего дня таких как генетика животных и селекция, включая сохранение генетических ресурсов животных, здоровья животных, физиологии лактации, роста и питания животных.

Естественный отбор, а затем искусственный отбор неизменно опирались на биоразнообразие. Селекция в сочетании с генетикой изначально использовали естественно созданное природой биоразнообразие, но уже с середины прошлого века мутагены в виде химических веществ или радиации были взяты на вооружение для увеличения разнообразия, а значит материала для скрининга на интересующие признаки. Данная стратегия позволила вывести множество стратегически важных для сельского хозяйства сортов растений. Появление технологий модификации генома позволяет направленно вносить нужные комплексные изменения в геном. Такой подход позволяет избежать длительных скрещиваний, объединив все искомые признаки в одну операцию, минуя длительную процедуру селекции.

Сессия: «IT в медицине и медицинское приборостроение»

Концепция разработки системы для лечения острой дыхательной недостаточности

Невзоров А.М.¹, Мальгичев В.А.¹, Шемакин С.Ю.²

¹ООО «ДОНА-М», Москва,

²НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва

Острая дыхательная недостаточность является одной из основных проблем современной медицины, решение которой позволит значительно снизить летальность и инвалидизацию населения в Российской Федерации. Летальность больных с острой дыхательной недостаточностью без применения средств оксигенации и механической поддержки кровообращения в России составляет более 150 000 в год, при этом на их лечение затрачиваются огромные средства. Применение ЭКМО для лечения данной категории больных, основанных на использовании технических средств поддержки функции газообмена, позволяет значительно снизить процент летальности и многим из пациентов вернуться к активной жизни, однако использование данного метода для лечения дыхательной недостаточности при нормальной работе сердца является избыточным и дорогостоящим мероприятием. Применение метода ЭКМО для временной поддержки функции дыхания применяется в ведущих клиниках страны, однако не находит широкого применения из-за необходимости использовать стационарное дорогостоящее оборудование импортного производства.

В целях повышения доступности изделия и повышения его технологичности предложен вариант компоновки, совмещающий насос крови с блоком оксигенации.

Разработанная компоновка является оригинальной, существенно сокращает длину магистралей крови, что в свою очередь позволяет отказаться от системы термостатирования крови и упростить конструкцию модуля управления.

Разработка технологии производства ¹³C-препаратов,

диагностики.

Доступ к большим архивам ЭКГ в среде WWW

Дроздов Д.В., Миронов Д.Н., Овасапян Ю.А., Егоров А.И.

Московский физико-технический институт, ООО "Альтоника", Москва
Станция скорой и неотложной медицинской помощи им. А.С.Пучкова, Москва
ddv@altonika.ru

Электрокардиограмма (ЭКГ) является одним из наиболее часто применяемых в кардиологии и неотложной медицине диагностических методов. Число накопленных даже в небольшой больнице ЭКГ и сложности поиска необходимой записи или серии записей настолько значительны, что термин и концепция большие данные (big data) могут быть применены к любому архиву ЭКГ. Доступ к записям ЭКГ с помощью беспроводных цифровых устройств способен значительно облегчить и ускорить диагностику. Очевидно, что веб-браузер является наиболее универсальным инструментом для визуализации любой информации, в том числе ЭКГ.

Нами разработан комплекс программных средств для сбора и хранения ЭКГ, а также для их просмотра и другой работы с ними в любом веб-браузере.

Главный сервер может размещаться как в локальной сети, так и в т. н. облаке. Установленная на нем база данных осуществляет хранение данных ЭКГ и осуществляет обработку запросов пользователей. Результаты запроса могут быть представлены в любом веб-браузере, поддерживающем HTML5, такие как механизм обработки векторных изображений. Набор инструментальных средств (подпрограмм) на языке JavaScript используется для вывода ЭКГ, ее масштабирования, проведения измерений и т.д. Пользователю предоставлен текстовый редактор для аннотирования ЭКГ и загрузки комментариев на сервер для хранения в базе данных. Если нужно распечатать ЭКГ, то сервер генерирует PDF-документ, который точно воспроизводит масштаб ЭКГ и все аннотации, которые сделаны пользователями. Существенно, что комплекс может работать с ЭКГ с различными разрешением и частотой дискретизации, при этом их отображение в веб-клиенте будет одинаковым для пользователя.

Один из разработанных комплексов был установлен на станции скорой медицинской помощи в Москве и эксплуатируется уже более 2 лет. ЭКГ, зарегистрированные бригадами и потребовавшие консультаций квалифицированных специалистов, хранятся в объединенной базе данных. За период приблизительно 5 лет было накоплено более миллиона таких ЭКГ. Эти данные используются врачами-консультантами во время экстренных он-



лайн консультаций для выездных бригад скорой помощи, а также для разбора случаев, требующих анализа работы бригад. Полное время отклика системы составляет около 2 секунд для поиска всех ЭКГ пациента по имени и фамилии. До внедрения комплекса это время составляло десятки минут.

Основными результатами внедрения комплекса на станции скорой помощи стало:

- полный отказ от бумажного архива ЭКГ;
- возможность в реальном времени экстренной консультации сравнить зарегистрированную ЭКГ с накопленными в архиве и точнее оценить динамику состояния пациента;
- упрощение анализа работы бригад руководством консультационной службы и станции;
- снижение числа необоснованных госпитализаций пациентов и косвенных расходов, связанных с оказанием помощи.

Все это повышает эффективность работы кардиологического консультативного пульта, снижает вероятность ошибок и финансовые затраты.

Повышение точности измерения параметров носового дыхания

Кадников А.Ф., Лукьянов Г.Н., Егоров А.И., Темиразов Д.А.

Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный
Санкт-Петербургский национальный исследовательский
университет информационных технологий, механики и оптики, г. Санкт-Петербург
ООО «Альтоника», Москва

Известно, что риноманометры вносят существенную погрешность в измерение потоков дыхания, поскольку при измерении носовые ходы перекрываются оливами. Это уменьшает клиническую ценность риноманометрии. Нами разработан новый аппаратно-программный комплекс (АПК) для измерения параметров дыхания.

АПК состоит из миниатюрного модуля измерения параметров дыхания, микроконтроллера с передатчиком, носимого кардиомонитора и переносной рабочей станции. Модуль измерения параметров дыхания включает в себя миниатюрные, не искажающие воздушный поток, датчики дыхания, располагаемые на глубине несколько миллиметров в наружных общих носовых ходах. Носимый кардиомонитор имеет 3 отведения ЭКГ, и обеспечивает длительность записи не менее 10 ч.

АПК обеспечивает синхронное измерение динамических характеристик носового дыхания и сердцебиения и позволяет обрабатывать следующие результаты измерений:

— направленность воздушного потока

- скорость воздушного потока, м/с;
- давление воздушного потока, Па;
- температура воздушного потока, °С;
- ритмограмма

Результаты измерений отображаются на мониторе компьютера и могут быть распечатаны на бумажных носителях. Программное обеспечение позволяет получить как графики первично измеренных параметров отдельно для каждой половины носа, так и визуальное представление ряда производных показателей, которые удобны для разграничения патологических состояний.

Новизна данного АПК состоит в применении миниатюрных датчиков, в отличие от громоздких оливок, масок, трубок и т.д. в существующих аналогах. Датчики обладают высоким быстродействием — показатели термической инерции по температуре — 0,2 с, по скорости 0,1 с, по давлению 0,01 с. Датчики регистрируют флуктуации скорости, давления и температуры воздушного потока (аэродинамику) именно в полости носа, а не за его пределами, как у существующих аналогов, что дает возможность правильно поставить диагноз пациенту и объективно оценить результаты лечения.

Сессия: «Нейротехнологии в России. Актуальное состояние и перспективы»

Неканонический афферентный синапс вкусовых клеток млекопитающих

Колесников С.С.

Институт биофизики клетки РАН, Пущино

Внеклеточный АТР является сигнальной молекулой, вовлеченной в межклеточных коммуникациях в самых разнообразных биологических тканях, включая центральную и периферическую нервные системы, где АТР выполняет функцию нейротрансмиттера/нейромодулятора. В частности, АТР является афферентным нейротрансмиттером в периферическом вкусовом органе — вкусовой почке. Основные хемосенсорные клетки вкусовой почки — вкусовые клетки типа II — специализируются в распознавании горьких и сладких веществ и аминокислот. При стимуляции вкусовыми веществами клетки типа II генерируют потенциалы действия, которые инициируют высвобожде-



ние АТФ при участии потенциал-зависимых АТФ-проницаемых ионных каналов, формируемых каналным белком CALHM1. В докладе обсуждаются механизмы вкусовой трансдукции, свойства неэктоцитозного Ca²⁺-независимого механизма афферентной нейропередачи вкусовой информации и методы анализа секреции АТФ с использованием клеточного АТФ-биосенсора.

MEG and EEG based neuroimaging of transient networks

Ossadtchi A.,

Высшая школа экономики, Москва

As from a finite alphabet the complexity of a language stems so the richness of our behavioral patterns arises from specific hierarchical interaction of a finite set of functionally specialized brain regions. Such interactions are of transient nature with characteristic scale of hundreds of milliseconds and can be studied using electro- and magnetoencephalography (EMEG). EMEG non-invasively registers electrical activity of neuronal assemblies that coalesce and decoalesce in time providing for massively parallel and dynamic flow of information exchange in the brain. Such a rich exchange of information produces extremely complicated patterns of the observed activity, especially when complex cognitive phenomena are investigated. In order to make use of such measurements we need conceptually new data analysis and statistical tools for extracting relevant information.

In this talk I will emphasize the benefits of network-based approach to neuroimaging. I will briefly describe the essentials of modern methods used for EMEG data analysis including inverse problem solving and synchrony assessment. Then I will introduce the concept of transient networks and by the way of examples from the recent literature and our own research will describe the results of utilizing such network-based approaches to analysis of EEG and MEG measurements. I will argue that exercising the network-centered view and using careful hypothesis-driven experimental planning combined with customized data analysis techniques it is possible to non-invasively discover the crucial information underlying brain function under pathological and normal conditions.

Структурные и функциональные коннектомы головного мозга

Ушаков В. Л.,

НИЦ «Курчатовский институт», г. Москва,
tiuq@yandex.ru

Для построения моделей работы головного мозга необходима визуализация и расчет параметров активности нейросетей, обеспечивающих когнитивные функции. Это требует разработку новых методов анализа нейрофизиологических данных. Сможет ли построение и анализ структурных и функциональных коннектомов головного мозга дать необходимую информацию в нейро-моделировании — этот вопрос будет рассмотрен в докладе.

Перспективные нейросетевые технологии распознавания образов в задачах детектирования

Шепелев И.Е., Самарин А.И.

НИИ нейрокибернетики им.А.Б.Когана Академии биологии и биотехнологии Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону
shepelev@krinc.ru

Применение нейросетевых технологий рассматривается с позиции решения двух разных задач распознавания образов — классификации и детектирования. Подчеркивается, что задача классификации решается на ограниченном множестве классов образов, предъявляемых системе для распознавания, а в задаче детектирования решение производится в среде с неограниченным количеством классов. На прикладных примерах «реального мира» обосновывается актуальность задачи детектирования и предлагаются оригинальные нейросетевые технологии её решения. Диапазон примеров приложений предлагаемых нейросетевых алгоритмов включает криминалистику, интерфейс мозг-компьютер и интеллектуальные робототехнические системы.

Как и зачем и генерируется тета-ритм в мозге

Мысин И.Е.¹ Казанович Я.Б.² Кичигина В.Ф.¹

¹ Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук



(ИТЭБ РАН), Пущино,

² Институт математических проблем биологии Российской академии наук
(ИМПБ РАН), Пущино,

imysin@mail.ru

Тета-ритм (частота 4-12 Гц) — один из ключевых ритмов в ЭЭГ, наиболее отчетливо выраженный во время исследовательской активности и решения задач у животных и человека. Его подавление приводит к нарушению внимания и памяти. Несмотря на важность этого процесса в работе мозга, механизмы его возникновения пока не ясны. В докладе будут обсуждаться нейронные механизмы генерации тета-ритма, а также представлены результаты собственных модельных исследований в этом аспекте.

Математическая модель нейронов и нейронных популяций как конечная форма представления данных электрофизиологических экспериментов

Чижов А.В.,

Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Санкт-Петербург,
anton.chizhov@mail.ioffe.ru

Эффективность экспериментального изучения нервной ткани мозга на клеточном уровне может быть повышена за счёт проверки новых данных путём сравнения с математической моделью, отражающей текущее состояние знаний в этой области. Недавно предложенный популяционный подход к моделированию нейросети неокортекса способен согласовывать данные разрозненных экспериментов с внутриклеточными электродными регистрациями и оптической визуализацией, проводимых как на переживающих срезах мозга, так и на живых животных. Перспективной методикой для модель-образующих экспериментов являются компьютер-управляемые внутриклеточные регистрации (динамический патч-кламп).

Детальное моделирование как связующий подход в изучении нейронных механизмов мозга

Васильков В.А., Киров В.Н., Тикиджи-Хамбурьян Р.А.,
НИИ нейрокибернетики им. А.Б. Когана
Южного федерального университета, Ростов-на-Дону
vva@sfedu.ru

Интенсивное развитие методов, позволяющих проводить нейро-биологические исследования на различных уровнях, определяет актуальную роль биологически обоснованных детальных моделей для эффективного обобщения экспериментальных данных и синтеза новых знаний. В данном контексте рассмотрены результаты применения детального нейромоделирования для изучения принципов обработки сенсорной информации в зрительной и слуховой системе. Основное внимание уделено механизмам локализации источника звука. Представлена межуровневая исследовательская модель с детализацией свойств отдельных нейронов, реализующая обработку и передачу информации об азимутальном положении звука от периферических к бинауральным отделам слуховой системы. Рассмотрено моделирование нейронных коррелятов ряда феноменов, наблюдаемых при психофизическом тестировании.

Сессия молодых ученых

Разработка препарата бактериофагов для контроля внутрибольничных инфекций

Попова А.В.^{1,2,3}, Мякинина В.П.^{2,3}, Веревкин В.В.^{2,3}, Красильникова В.М.^{2,3}, Кисличкина А.А.², Баннов В.А.^{2,3}, Комбарова Т.И.², Коробова О.В.², Денисенко Е.А.², Воложанцев Н.В.², Борзилов А.И.², Богун А.Г.², Алешкин А.В.^{3,4}, Светоч Э.А.^{2,3}

¹ Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

² ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск

³ Компания Бифаг, Москва

⁴ ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского

Группа бактериальных патогенов, включающая в себя представителей неферментирующих грамотрицательных бактерий — *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*, грамотрицательную бактерию семейства *Enterobacteriaceae* — *Klebsiella pneumoniae*, и грамположительный микроорганизм — *Staphylococcus aureus* — играет существенную роль в патологии человека и в последние десятилетия является доминирующей в этиологии нозокомиальных инфекций. В первую очередь это связано с распространением множественно-устойчивых к антимикробным препаратам бактериальных штаммов данных видов микроорганизмов, а



также с увеличением числа иммунокомпрометированных лиц среди населения и пациентов в отделениях реанимации и интенсивной терапии.

Применение литических бактериофагов — один из возможных путей решения серьёзной терапевтической проблемы, которую представляют внутрибольничные инфекции, вызванные *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, и *S. aureus*. С этой целью разработан лечебно-профилактический препарат, включающий вирулентные бактериофаги против каждого вида патогена.

Фаги, входящие в комплексный препарат, охарактеризованы как с точки зрения новых биологических объектов, так и безопасности их дальнейшего практического использования.

Для всех бактериофагов определены морфология негативных колоний, спектр антибактериального действия и специфичность на коллекции штаммов возбудителей внутрибольничных инфекций, параметры инфекционного процесса: время адсорбции, одиночный цикл размножения бактериофага с определением латентного периода и выхода фаговых частиц, таксономическое положение на основе данных электронной микроскопии и геномного анализа, стабильность и литическая активность фагов при влиянии различных физико-химических факторов, а также установлена полная нуклеотидная последовательность фаговых геномов.

Проведен полный цикл доклинической оценки лечебной и профилактической эффективности, а также безопасности комплексного препарата. Эффективность показана в опытах по профилактике и лечению экспериментальной острой клебсиеллезной инфекции у мышей, которые полностью санировались от высоковирулентного штамма *K. pneumoniae* на фоне применения препарата. Безопасность продемонстрирована результатами изучения острой и хронической токсичности препарата бактериофагов для белых беспородных мышей.

Таким образом, создан новый оригинальный лечебно-профилактический препарат, который может успешно использоваться в борьбе с множественно-резистентными штаммами *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *S. aureus* и внести существенный вклад в решение проблемы контроля внутрибольничных инфекций.

Гидрофобные матрицы как подход модификации высвобождения амфолитной фармацевтической субстанции

Нифонтова Г.О.^{1,2}, Кречетов С.П.¹

¹ Московский физико-технический институт, Долгопрудный

² Первый Московский Государственный Медицинский Университет им. И.М. Сеченова,
Москва

ngo@pharmcluster.ru

Использование лекарственных форм на основе нерастворимых в водных средах гидрофобных матриц представляет собой один из способов модификации высвобождения из лекарственных препаратов (ЛП) умеренно растворимых и растворимых амфолитных ФС. Целью нашего исследования является разработка и изучение особенностей высвобождения амфолитной ФС амбена из ЛП с модифицированным высвобождением на основе гидрофобной матричной структуры, а также влияния технологических факторов на данный процесс.

Влияние pH на растворимость ФС определяли, используя «shake-flask» метод. Образцы гидрофобных матриц получали технологией прямого прессования и сухой грануляции. Профили высвобождения ФС определяли при pH 1,2; 6,8 и 8,0. Количественное содержание ФС в пробах анализировали УФ-спектрофотометрически и с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии. В результате исследования определена зависимость насыщенной концентрации амфолитной ФС от pH, разработаны и получены составы гидрофобных матриц с применением прямого прессования и сухой грануляции, установлены профили растворения в средах с pH, соответствующим физиологическим для желудочно-кишечного тракта.

Полученные данные демонстрируют целесообразность использования гидрофобных матриц для модификации высвобождения амфолитных ФС. Дополнительная структуризация матрицы с помощью грануляции указывает на возможность получения для таких ФС ЛП с модифицированным высвобождением.

Идентификация человека по ЭКГ с использованием метрики Хаусдорфа в фазовом пространстве

Астапов А. А.¹, Давыдов Д.В.², Егоров А.И.¹, Дроздов Д.В.²



¹ Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный Москва

² «Altomedika» Ltd, Москва, Россия

artem.astapov@phystech.edu

Электрическая активность сердца, записываемая в виде электрокардиограммы (ЭКГ), является стабильным, уникальным и простым сигналом, который сложно подделать. Данные факты побуждают использовать ЭКГ в качестве биометрического параметра.

Целью исследования является оценка возможности использовать электрокардиограмму для идентификации конкретного человека из небольшой выборки людей.

Алгоритм основан на исследовании поведения динамической системы в фазовом пространстве значений сигнала ЭКГ и его производных по времени. Ценность метода состоит в возможности использовать дополнительную информацию, содержащуюся в скоростных характеристиках исследуемого процесса. Идентифицируемый сигнал ЭКГ в фазовом пространстве формируется при помощи вычислительных методов, после чего сравнивается в метрике Хаусдорфа с эталонными.

В ходе эксперимента были записаны электрокардиограммы 20-ти здоровых испытуемых с интервалом записи в неделю и более. Удалось верно идентифицировать 15 человек, остальные 5 добровольцев показали высокую степень схожести со своими эталонными сигналами, однако не достаточную для однозначной идентификации.

Результаты показывают принципиальную возможность применения разработанного алгоритма для целей идентификации человека по ЭКГ, а так же перспективу для дальнейшей работы по развитию метода.

Церебральная оксиметрия: усовершенствованная методика оценки насыщения гемоглобина кислородом

Тарасов А.П., Егоров А.И., Давыдов Д.В., Дроздов Д.В.

Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

tarasov.ap@phystech.edu

В основе вычислительных алгоритмов современных церебральных оксиметров, использующих принципы спектроскопии с пространственным разрешением, лежит существенно упрощенное выражение для диффузного отражения:

$$R \sim \frac{\exp(-\mu_{eff}\rho)}{\rho^2},$$

где ρ – расстояние между источником света и точкой наблюдения, $\mu_{eff} = \sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)}$ – эффективный коэффициент взаимодействия, μ_a – коэффициент поглощения, μ'_s – транспортный коэффициент рассеяния. Кроме того, предполагается линейная зависимость оптической плотности от расстояния между источником света и детектором. Как следствие, ухудшается точность вычисления оксигенации головного мозга.

Авторы полагают, что использование более точного выражения для диффузного отражения

$$R \sim \left(\mu_{eff} + \frac{1}{\rho}\right) \frac{\exp(-\mu_{eff}\rho)}{\rho^2}, \quad (1)$$

и предположение линейной зависимости первой производной оптической плотности по расстоянию (вместо линейной зависимости самой оптической плотности) позволит повысить точность оценки оксигенации головного мозга. Используя (1), можно получить следующее выражение для μ_{eff} :

$$\mu_{eff} = \frac{\sqrt{7+3\ln 10 \cdot \rho_0^2 \cdot OD''} - 1}{2\rho_0 \left(1 + \frac{\rho_0^2}{2} \ln 10 \cdot OD''\right)},$$

где OD'' - вторая производная оптической плотности по расстоянию, ρ_0 — расстояние между источником света и центром области детектирования.

Далее, используя определение μ_{eff} и аппроксимацию зависимости от длины волны для μ'_s возможно получить отношение μ_a для двух (или более) используемых длин волн излучения, а затем вычислить оксигенацию.



в Северной Евразии (по данным полногеномного секвенирования и популяционного скрининга)

Агджоян А.Т.^{1,2,3}, Чухряева М.И.^{2,3}, Кузнецова М.А.², Запороженко В.В.², Альборова И.Э.¹, Дибирова Х.Д.^{2,3}, Виллемс Р.⁴, Мустафин Х.Х.¹, Балановская Е.В.², Балановский О.П.^{1,2,3}

¹Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

²ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

³ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН, Москва

⁴Эстонский Биоцентр, г. Тарту, Эстония

aagdzhoyan@gmail.com

Одной из наиболее распространенных гаплогрупп (генетических линий) Y-хромосомы в народонаселении Северной Евразии является гаплогруппа N1c. Её ареал занимает широкое пространство от Балтийского и Чёрного морей в Европе до Тихого океана на Дальнем Востоке. Согласно последним данным, гаплогруппа N1c возникла около 20 тысяч лет назад, а около 15 тысяч лет назад внутри неё выделились две субгаплогруппы с не менее узким географическим охватом: N1c1 и N1c2. Первая субгаплогруппа — N1c1 — с высокой частотой распространена в трех регионах: в Северо-Восточной Европе, в Уральском регионе и Восточной Сибири. Вторая субгаплогруппа — N1c2 — наиболее часто встречается в Приуралье и Северо-Западной Сибири, хотя распространена намного шире: от Северной Европы до Дальнего Востока. Такие особенности географии обеих ветвей гаплогруппы N1c позволяют предполагать наличие внутри каждой из них многих локальных вариантов. Изучение закономерностей распространения и времени появления таких локальных гаплогрупп является эффективным инструментом при реконструкции древней истории населения Северной Евразии.

Филогенетический анализ субгаплогрупп N1c1 и N1c2 по данным полного секвенирования Y-хромосомы носителей гаплогруппы N1c позволил охарактеризовать внутреннюю структуру обеих субгаплогрупп, выделить географически и этнически специфичные кластеры внутри них, рассчитать датировки возраста и выделить маркеры, определяющие специфические кластеры. Дальнейшее массовое генотипирование более тысячи образцов ДНК носителей субгаплогрупп N1c1 и N1c2 из популяций нескольких десятков народов России и сопредельных стран позволило определить частоты открытых специфических вариантов в народонаселении Северной Евразии. Картографирование результатов популяционного скрининга выявило географическую приуроченность отдельных 9 вариантов внутри N1c1 к разным регионам Евразии: Дальнему Востоку, Южной и Северо-Восточной Сибири, Уралу и Северной Европе. Для другой субгаплогруппы — N1c2 — обнаружено подраз-

деление на три основных варианта — «уральский», «центральноазиатский» и «сибирский». Синтез закономерностей распространения всех выявленных локальных генетических вариантов и датировок их появления указывает на территорию Сибири как наиболее вероятную прародину гаплогруппы N1с и активные демографические процессы около 3-4 тысяч лет назад.

Работа выполнена при финансовой поддержке Благотворительного фонда им. святителя Григория Богослова, Российского научного фонда и в рамках международного сотрудничества с Эстонским Биоцентром.

Нерекомбинирующие участки генома человека: от сиквенсов к филогениям высокого разрешения

Запороженко В.В.², Балановский О.П.^{1,2,3}

¹Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

²ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

³ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН, Москва

Доказано, что принимая некоторые априорные посылки относительно характера мутирования цепочек ДНК и постепенно увеличивая число исследуемых локусов, мы можем восстановить истинное филогенетическое древо. Но так ли это на практике? При изучении мтДНК и Y-хромосомы человека исследователи сталкиваются с практическими пределами разрешения филогенетических деревьев, обусловленными сразу несколькими факторами: количеством неконстантных позиций генома, степенью гомоплазии и качеством исходных выравниваний. Интуитивное ожидание, что “полный” геном должен давать “полную” информацию об истории данного участка ДНК, может вводить в заблуждение: хотя филогенетическая информация, доступная из полного генома, уже не может быть увеличена за счет первичных данных, она все еще содержит немалую долю неопределенности, в том числе позволяет равновероятные реконструкции топологии, предковых состояний сайтов и некоторую вариацию предполагаемого возраста древних клад. Но несмотря на перечисленные трудности, связанные с желанием “знать все”, полное секвенирование дает однозначные и окончательные ответы на вопросы, которые обычно неразрешимы при работе с базами частичных сиквенсов и небольших наборов SNP. В докладе мы остановимся на проблемах, с которыми сталкивались мы и наши коллеги при создании баз данных по полным сиквенсам мтДНК и Y-хромосомы человека, в частности, о поиске компромисса между желанием вклю-



читать в базу как можно больше данных и осторожностью опытного исследователя.

Тезисы постерных докладов

Опыт фаг-опосредованного биопроцессинга пищевых полуфабрикатов

Алешкин А.В.^{1,2}, Рубальский Е. О.^{1,2},

Ларина Ю. В.³, Киселева И.А.^{1,2}, Афанасьев С. С.¹, Ефимова О.Г.¹, Зулькарнеев Э. Р.^{1,2}, Гордеева Ю.В.⁴

¹ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, Москва

²ООО «БиФаг», Москва

³Территориальный отдел Управления Роспотребнадзора по городу Москве в Юго-Восточном АО города Москвы

⁴Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

andreialeshkin@googlemail.com

Применение в производстве, транспортировке и хранении пищевых полуфабрикатов технологий охлаждения не защищает продукцию от размножения в ней бактерий, вызывающих инфекции, передающиеся пищевым путем. Использование химических консервантов и антибиотиков также не решает эту проблему, снижая качество продукции и повышая риск возникновения бактерий с множественной антибиотикорезистентностью. В МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского проводятся исследования, направленные на разработку средств биодеконтаминации мяса, молока, птицы и рыбы на основе бактериофагов. Сотрудниками института проведены лабораторные испытания вспомогательного технологического средства на основе колифага, активного в отношении STEC и других клинически значимых штаммов *E.coli*, предназначенного для фаг-опосредованного биопроцессинга говяжьего фарша. В модельном эксперименте с искусственной контаминацией и последующей биодеконтаминацией образцов фарша подтверждена полная элиминация *E. coli* в течение 24 часов. Для фаг-опосредованного биопроцессинга полуфабрикатов на основе измельченной мякоти свинины разработано и апробировано в условиях крупномасштабного мясоперерабатывающего производства вспомогательное технологическое средство на основе коктейля, содержащего коли, сальмонеллезные и листериозный бактериофаги. Применение инновационного метода биодекон-

таминации фарша при производстве купат позволило добиться после семидневного хранения охлажденной продукции полной деконтаминации *E. coli* в опытной партии, в то время как контрольные образцы продукции были обильно контаминированы кишечной палочкой. Для обеззараживания непастеризованного молока от STEC и MRSA штаммов бактерий в лабораторных условиях апробировано средство на основе двух штаммов бактериофагов, активных в отношении этих микроорганизмов. Добавление стерильного фильтрата фаголизатов в экспериментально зараженное молоко позволило в течение 2 часов элиминировать STEC и MRSA штаммы бактерий. Разработанное в МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского средство для фаг-опосредованного биопроцессинга куриного окорока содержит сальмонеллезный бактериофаг, активный в отношении 85% штаммов *S. Enteritidis*. При использовании этого средства деконтаминации удалось добиться полной элиминации микробных клеток штамма *S. Enteritidis* M4 с поверхности искусственно контаминированных кусочков окорока в срок от 1 до 24 часов в зависимости от исходной концентрации фаговых частиц. Все бактериофаги, включенные в эксперименты по фаг-опосредованному биопроцессингу, полностью охарактеризованы по своим фенотипическим и генотипическим свойствам. Полногеномное секвенирование и анализ методами биоинформатики геномов бактериофагов удостоверял их оригинальность, вирулентную природу и отсутствие локусов патогенности и антибиотикорезистентности. Проведенные исследования подтвердили высокую эффективность средств биодеконтаминации на основе бактериофагов при полном сохранении пищевой ценности, органолептических свойств и экологической чистоты мясных, молочных и рыбных полуфабрикатов.

Исследование функциональной активности липид-транспортирующего белка гороха посевного *Pisum sativum* L

Богданов И.В., Финкина Е.И., Мельникова Д.Н., Овчинникова Т.В.

ИБХ РАН

contraton@mail.ru

Растительные липид-транспортирующие белки (LTP) являются важными компонентами защитной системы растений. Данные белки проявляют антимикробную активность в отношении фитопатогенных микроорганизмов. Помимо этого LTP обладают способностью связывать и переносить разнообразные липидные молекулы, которые яв-



пространение бактериальных патогенов, обладающих мульти- и кросс-резистентностью к различным классам антибиотиков. Одной из причин устойчивости патогенов может являться низкая проницаемость бактериальных мембран для антимикробных препаратов. Среди возможных способов преодоления данной проблемы — комбинированное использование различных антимикробных соединений. За счет совместного использования антибиотиков, действующих на внутриклеточные мишени, и веществ, обладающих мембранотропным механизмом действия, в ряде случаев удастся снизить эффективную дозу и расширить спектр применения препаратов.

За последнее время в результате непрекращающихся поисков было открыто и выделено множество антимикробных пептидов (АМП) из животных, растений и микроорганизмов. Особый интерес представляет группа катионных β -спилечных АМП, структура которых стабилизирована дисульфидными связями.

В данной работе было исследовано совместное антимикробное действие рекомбинантного β -спилечного АМП ареницина-1 или его менее токсичного аналога с заменой аминокислотного остатка валина в положении 10 на аргинин и одиннадцати классических антибиотиков, относящихся к различным структурным группам (ампициллин, рифампицин, полимиксин В, тетрациклин, стрептомицин, хлорамфеникол, эритромицин, ванкомицин, спектиномицин, клиндамицин, гентомицин). В качестве тест-культур использовались бактерии *Escherichia coli* C600, *Staphylococcus aureus* 209p и *Pseudomonas aeruginosa* PA01. Минимальные ингибирующие концентрации (MIC) определяли методом двойных серийных разведений в жидкой среде.

Оценку синергетического эффекта проводили путем вычисления индекса долевых ингибирующих концентраций (FICI). $FICI = [A]/MICA + [B]/MICB$, где MICA и MICB – минимальные ингибирующие концентрации для индивидуальных веществ, а [A] и [B] – минимальные ингибирующие концентрации при совместном применении. Значение $FICI \leq 0.5$ показывает, что вещества проявляют синергизм.

Было показано наличие синергического эффекта при совместном применении ареницина-1 и некоторых конвенциональных антибиотиков. Наиболее ярко эффект проявлялся при совместном применении с полимиксином В, рифампицином и эритромицином. Результаты экспериментов с использованием аналога V10R совпали с аналогичными для ареницина-1, что свидетельствует об идентичности механизмов их действия.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (соглашение № 14-14-01036).



Компьютерные подходы к поиску новых малых молекул-агонистов рецептора глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1R)

Бушков Н., Анастасия А., Веселов, М., Смирнова А.,
Чупров-Неточин Р., Марусич Е., Леонов С.
Московский физико-технический институт, Долгопрудный
bushkov@phystech.edu;

Болезнь Альцгеймера — одна из самых распространённых болезней мозга, ведущая к последовательному снижению когнитивных функций и, в конце концов, к смерти. За годы исследований учёным удалось выявить множество признаков заболевания, но эффективная терапия до сих пор не создана. Предыдущие исследования в нашей лаборатории позволили создать клеточную модель болезни Альцгеймера, которая учитывает роль в патогенезе как бета-амилоида, так и тау-белка. Помимо возможности исследовать фундаментальные механизмы нарушений, с помощью модели можно производить массовый скрининг химических соединений, которые потенциально могут модифицировать патогенез заболевания.

Наша лаборатория обладает превосходными возможностями для проведения высокопроизводительного скрининга с помощью флуоресцентного микроскопа ImageXpress Micro XL, хотя для этой процедуры необходимо собирать библиотеки химических веществ. В современной разработке лекарств широко распространён таргетный подход к поиску новых лекарственных кандидатов, и в нашем случае также предполагается сначала определить биологическую мишень для химических соединений. По нескольким различным причинам для дальнейших исследований в качестве таковой был выбран рецептор глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1R). Согласно недавним публикациям, стимуляция указанного рецептора вызывает активацию каскадов реакций, ведущих к изменению активности киназ, ответственных за фосфорилирование тау-белка, нарушающееся при болезни Альцгеймера. Более того, различные эпидемиологические исследования лекарственных кандидатов, действующих на GLP-1R, выявили положительное влияние на состояние пациентов с болезнью Альцгеймера.

Современные технологии помогают проводить поиск терапевтически активных молекул более эффективно с использованием компьютерных методов. В первую очередь, результаты предыдущих исследований по поиску агонистов GLP-1R могут быть отслежены в таких интернет-базах данных, как Thomson Reuters Integrity, а их тщательный анализ помогает избежать возможных ошибок в нашем исследовании,

а также поставляет идеи о правильном направлении работы. Анализ показал, например, что при нахождении молекул с хорошим связыванием вероятнее обнаружить антагонисты, чем агонисты, что большинство активных к GLP-1R молекул являются аллостерическими модуляторами. Кроме того, на основе изученных молекул можно строить компьютерные модели, прогнозирующие, например, проницаемость через гематоэнцефалический барьер, которая важна при поиске лекарств, действующих на мишени в центральной нервной системе; в нашей лаборатории подобные модели строятся с использованием программных средств Smart Mining и ChemoSoft.

Основным же методом процесса виртуального скрининга молекул в настоящем исследовании являлся 3D-фармакофорный поиск. На основании кристаллических структур нескольких агонистов GLP-1R формировались фармакофорные гипотезы для поиска молекул, обладающих схожими пространственными физико-химическими характеристиками. Для решения этих задач использовался мощнейший программный пакет Schrodinger. В результате исследования была сформирована библиотека из более чем 100 виртуальных хитов, которые в дальнейшем планируется тестировать на клеточной модели с целью проверки их активности.

Хлорелла как модельная система для скрининга модуляторов роста растений

П. Волынчук¹, Е. Марусич¹, Р. Чупров-Неточин¹, Я. Нескородов², С. Леонов¹

¹Московский физико-технический институт, Долгопрудный

²Центр «Биоинженерия» РАН, Москва

За последнее время значительно выросла потребность в модуляторах роста сельскохозяйственных культур в агропромышленном секторе РФ. Появление новых видов вредителей и болезней, резистентных к существующим препаратам, ухудшение эколого-климатических условий на планете, задача снижения экологической нагрузки на природные системы — это лишь некоторые из факторов, заставляющих задуматься о поиске новых гербицидов и пестицидов. В связи с этой проблемой остро стоит вопрос в разработке эффективных модельных систем для тестирования новых регуляторов роста растений.

Целью нашей работы является разработка модельной системы для скрининга потенциальных модуляторов роста растений на основе хлореллы вульгарис (*Chlorella Vulgaris*). Эта микроводоросль была выбрана в качестве объекта для тестирования, поскольку она имеет ряд преимуществ по сравне-



нию с другими широко распространёнными модельными системами:

- хлорелла вульгарис может быть выращена непосредственно в микропланшетах, что является необходимым условием для скрининга большого числа химических соединений в автоматическом режиме с использованием минимального объема тестируемых веществ;
- продолжительность эксперимента составляет 48 часов, в то время как при исследованиях в полевых условиях она составляет от одной до нескольких недель;
- возможность мониторинга и количественной оценки оптической плотности культуры хлореллы в процессе инкубации позволяет однозначно детектировать наличие или отсутствие модулирующего эффекта тестируемых соединений;
- несмотря на размер (диаметр клетки 5-10 мкм) хлорелла вульгарис является целостным растительным организмом, на котором можно наблюдать полный цикл развития одноклеточных растений.

В ходе исследования нами были разработаны параметры постановки эксперимента, включая оптимизацию среды и светового режима для выращивания хлореллы вульгарис, подбор объема реакционной смеси в 96-луночном планшетном формате. В целях стандартизации постановки эксперимента распределение культуры и активных веществ по ячейкам производилось с помощью роботизированной системы Biomek NX в автоматическом режиме. В климатической камере Binder постоянно поддерживались температура (200°C) и световой режим (16/8 ч — световая/темновая фазы). Измерение оптической плотности производилось с помощью планшетного ридера CLARIOstar. Начальная плотность культуры хлореллы составляла 0,1 OD.

Для валидации модельной системы скрининга были использованы эталонные модуляторы роста растений, активность которых была доказана для высших растений. На веществах, относящимся к классам цитокининов и ауксинов, был продемонстрирован стимулирующий эффект, при этом оптическая плотность культуры хлореллы выросла в 3,5-5,5 раз по сравнению с контрольной группой. В дальнейших экспериментах выбранные эталоны были использованы в качестве позитивного контроля. Скрининг на модели хлореллы 8 химических соединений — хитов, отобранных нами при предыдущем скринировании более 1000 веществ на модели пыльцы табака (*Nicotianatabacum L.*) и арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*) подтвердили их как стимулирующую, так и ингибирующую активности.

Таким образом, наши исследования подтвердили, что разработанная нами система на основе микроводоросли хлореллы вульгарис может служить эффективной моделью для первичного скрининга новых химических регуляторов роста сельскохозяйственных растений. Модельная

система имеет такие преимущества по сравнению с существующими, как короткое время и простота эксперимента, автоматизация процесса, низкая стоимость исследований.

Создание штамма-продуцента антитела к фактору некроза опухоли альфа

Воронина Е.В.¹, Серегин Ю.А.¹, Литвинова Н.А.¹, Швец В.И.², Шукуров Р.Р.¹

¹ГНЦ РФ ФГУП НИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва

²Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова, Москва

e-mail: voronina@pharmapark.ru

Рекомбинантные моноклональные антитела к фактору некроза опухоли альфа широко используются в качестве биофармацевтических препаратов для лечения аутоиммунных заболеваний. На рынке в настоящее время присутствует большое число подобных препаратов, и разработка их российских биоаналогов представляет важную задачу. Одно из таких антител являлось целью описываемой разработки.

Цель исследования. Создать высокопродуктивный штамм-продуцент гуманизированного антитела к фактору некроза опухоли альфа.

Материалы и методы. Сконструированы экспрессионные плазмиды, содержащие гены тяжелой и легкой цепей моноклонального антитела, с использованием векторов рOptiVEC и рсDNA (Invitrogen, США). Для выбора наиболее эффективной комбинации векторов для экспрессии моноклонального антитела в клетках CHO-DG44 проведена транзиентная трансфекция с использованием реагента FreeStyle MAX (Invitrogen, США). Отбор стабильных клонов-продуцентов проводили методом предельных разведений. Клетки выбранного пула подвергли воздействию селекционного агента — метотрексата (MTX). Полученный пул клеток, устойчивый к MTX, клонировали методом предельных разведений. Отобрали клональные линии продуцента и провели их сравнительный анализ на количество секретируемого белка (иммуноферментный анализ, ИФА), содержание легкой и тяжелой цепей (электрофорез с окраской Кумасси) и связывание с антигеном (антиген-специфичный ИФА). Культивирование осуществляли в суспензии в среде без содержания сыворотки с добавлением подпиток различного состава в многоруночных планшетах и колбах объемом 125 мл.

Результаты. Максимальный уровень экспрессии моноклонального антитела получен в случае трансфекции клеток комбинацией векторов рOptiVEC-НС и рсDNA-LC. Популяция с аксимальной экспрессией



моноклонального антитела, выбранная в условиях стабильной тран-зиентной трансфекции, имела выход 0,6 нг/мл. После амплификации с МТХ на основании скорости роста, жизнеспособности и продуктив-ности были отобраны 7 лучших клонов, обладающие удельной про-дуктивностью 7-18 пг/клетку/день. С помощью первичного скрининга сред и подпиток в колбах были достигнуты следующие показатели: про-дуктивность по целевому белку 0,3-1,2 г/л, длительность культивирова-ния 10-14 суток, максимальная клеточная плотность 8-38 млн клеток/мл. При непрерывном культивировании в течение 60 суток удельная продуктивность разных клонов снижалась на величину 0-70%, при этом только для одного клона уровень экспрессии был полностью стабилен.

Выводы. Использование клеточной линии CHO-DG44 и разра-ботанных генетических конструкций позволило достичь продуктив-ности по целевому белку более 1 г/л в неоптимизированных услови-ях. При этом для одного из продуцентов была показана как высокая продуктивность, так и стабильность экспрессии при длительном культи-вировании. Необходимо дальнейшая работа по оптимизации условий культивирования для дальнейшего увеличения продуктивности полу-ченного клона-продуцента.

Vascular network reconstruction for 1D hemodynamic simulations

Gamilov T.^{1,2}, Ivanov Y³, Pryamonosov R.^{3,4}

¹MIPT, ²ICAD RAS, ³INM RAS, ⁴MSU

gamilov@crec.mipt.ru

Patient specific modelling (PSM) is one of the crucial problems of modern hemodynamics. It involves using various patient data in construction of mathematical model, which delivers information on the the most optimal way of treatment. One of the problems of PSM is that amount of data that can be obtained in a reasonable time with reasonable spendings is sparse. The construction of 1D blood vessels network would require information on the whole systemic circulation.

CT scans and MRI usually provide data on a specific region of human body. Other regions can be simulated via boundary conditions. Another approach is to use network of vessels based on anatomical databases and substitute its parts with patient data. In this work this approach is used to simulate blood flow in coronary vessels. CT scans are used to construct 1D network of coronary region. The rest of systemic circulation is based on anatomical database. In order to construct patient specific vascular geometric

for implementing blood circulation modelling we need to perform the sequence of actions. Extraction geometry of specific tissues from diagnostic data (computed tomography scans) requires complex image processing and segmentation algorithms. For coronary region segmentation algorithm uses Hough transformation to detect the aorta and Hessian based Frangi filter for coronary vessels recognition. CT scans allow to reconstruct vascular geometric for a specific region of human body. Acquiring patient specific geometric of the whole systemic circulation is usually impossible. There are few ways of solving this problem. The first one is setting boundary conditions on the borders of available patient specific network. Other way is to use systemic circulation network based on anatomical database or some averaged measurements. This network can be completed with patient specific regions obtained from CT scans.

Разработка клеточной модели оценки эффективности лечебного действия бактериофагов в борьбе с микробными патогенами

Ю. Гордеева¹, Е. Марусич¹, А. Попова¹, Р. Чупров-Неточин¹, С. Леонов¹

¹Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

В настоящее время наблюдается резкое снижение эффективности антибиотикотерапии вследствие повышения устойчивости патогенных и условно-патогенных бактерий к антибактериальным препаратам. В связи с этим фундаментальной задачей современной медицинской биотехнологии является разработка альтернативных подходов в лечении микробных инфекций.

Одним из путей решения данной проблемы является использование бактериофагов — вирусов бактерий, их естественных врагов и регуляторов численности популяции микроорганизмов. Благодаря строгой специфичности действия, бактериофаги в отличие от антибиотиков, не угнетают нормальную микрофлору, не обладают токсическим действием.

Однако несмотря на успехи фаготерапии в России и в странах Восточной Европы, этот подход в борьбе с микробными патогенами еще не нашел широкого применения в здравоохранении РФ.

В целях получения полного набора количественных и качественных характеристик фаговых препаратов, открывающих перспективы их использования в клинической практике в качестве лекарственных средств, мы предлагаем разработку клеточной модели фаготерапии *in vitro*. Мы заражали медицински значимым патогеном *Pseudomonas aeruginosa* культуры фибробластов, а затем "лечили" их препаратами фагов и одновременно скринировали терапевтический/лечебный эффект действия бактериофа-



гов по изменению биологических характеристик внутри инфицированных клеток (продукция клеточных факторов, жизнеспособность, морфологические характеристики клеток и т. д.).

Мониторинг стадий инфицирования и регистрацию внутриклеточных изменений проводили с использованием системы высокопроизводительного скрининга ImageXpressMicroXL High Content Screening System, оснащенной самыми современными пакетами программного обеспечения и статистической обработки данных.

В целях оптимизации условий инфекционного процесса нами было проведено тестирование доз штамма *Pseudomonas aeruginosa* PO1 в пределах 0.1-50 MOI относительно хозяйских клеток фибробластов NIH-3T3. Затем проведена серия экспериментов в целях определения наиболее эффективных терапевтических доз «лечебных бактериофагов» фKZ, SN, KMV и UA. Оценку эффективности проводили по степени восстановления жизнеспособности ранее инфицированных фибробластов. Для проведения экспериментов были наработаны и охарактеризованы стоки 4 бактериофагов с титрами в пределах 10⁹-10¹¹ рfu/мл, сток микробного патогена *P. Auroginosa* с титром 10⁸ колоний в мл. Для оценки жизнеспособности клеток фибробластов использовали кит CellTiter-Glo Luminescent (Promega, USA), измерения проводили на мультимодальном планшетном ридере CLARIOstar (Germany).

Полученные в ходе наших исследований данные будут в дальнейшем использоваться в качестве основы для разработки методических принципов инфицирования клеток человека микробными микроорганизмами и оценки терапевтической эффективности бактериофагов, используемых в борьбе с ними.

Исследование влияния динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) на конформацию и функциональные изменения молекул сывороточного альбумина

Гусева С.С.

Московский Государственный университет им. Ломоносова, Москва
gusiandco@gmail.com

Сывороточный альбумин является одним из основных белков плазмы. Так как альбумин способен взаимодействовать с большим числом различных лигандов, в его функции входит транспорт жирных кислот, связывание эндогенных и экзогенных токсинов, депонирование NO. На загруженность сывороточного альбумина различными молекулами (транспортная эффективность) влияет pH, содержание липидов, низкомо-

лекулярных веществ и белков в плазме, поэтому транспортная эффективность зависит от состояния организма и может изменяться при развитии патологических процессов.

В ходе исследования действия нового гипотензивного препарата с пролонгированным эффектом — динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) — были выявлены 2 группы пациентов, на которых действие ДНКЖ проявлялось по-разному. Вероятно, обнаруженные различия могут быть связаны с отличиями в структуре и/или нарушениями транспортной эффективности сывороточного альбумина у пациентов разных групп. Для исследования взаимодействия ДНКЖ с альбумином использовали спин-меченую жирную кислоту (16-доксил-стеариновая кислота). При встраивании зонда в белок время его вращательной диффузии увеличивается и, соответственно, меняется форма спектров электронного парамагнитного резонанса, для регистрации которых использовали ESR-Analyzer MMS 01-08 (Medinnovation, Германия). Регистрация изменений в конформации молекул альбумина была проведена при помощи спектроскопии высокого временного разрешения в режиме время-коррелированного однофотонного счета (SimpleTau-140, Becker&Hickl, Германия) при возбуждении собственной флуоресценции триптофана.

Показано, что этанол и SDS имеют разнонаправленные действия на структуру альбумина. Изменения в конформации HSA и BSA в их присутствии хорошо известны. Влияние ДНКЖ на структуру альбумина, напротив, мало изучено. В нашей работе мы сравнивали влияние SDS, этанола и ДНКЖ на молекулы альбумина, чтобы изучить механизмы взаимодействия ДНКЖ с белком.

Было показано, что нарушения конформации сывороточного альбумина, вызванные детергентами и/или изменением pH, приводят к снижению доли спин-меченных жирных кислот, связанных с высокоафинными сайтами, и одновременно сокращению длительности флуоресценции триптофана. В результате исследований *in vitro* было показано, что ДНКЖ не влияют на конформацию и функциональное состояние сайтов связывания жирных кислот альбумина, как человеческого, так и бычьего. Однако анализ кинетик затухания флуоресценции триптофана, позволил обнаружить изменения в структуре альбумина в присутствии ДНКЖ. Предполагается, что взаимодействие ДНКЖ с сывороточным альбумином происходит не напрямую через ковалентное связывание с остатком цистеина-34 и не через сайты связывания жирных кислот, а опосредованно, вероятно, с участием других компонентов плазмы крови.



Получение самодиспергирующейся композиции пророксана и изучение ее свойств

Деникаева Ю.Р., Кречетов С.П., Долотова О.В.

Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный
djr@pharmcluster.ru

Самодиспергирующиеся композиции на основе амфифильных полимеров с включением фармацевтических субстанций (ФС), плохо растворимых в воде является перспективным направлением для создания эффективных и безопасных лекарственных препаратов.

В данной работе исследовалась возможность создания самодиспергирующейся композиции пророксана на основе блок-сополимера полиоксиэтилена и полиоксипропилена (полоксамера). Композицию получали из раствора ФС и полоксамера в спирте путем нанесения на микросферы из микрокристаллической целлюлозы с использованием установки кипящего слоя. В полученном продукте анализировали количественное содержание ФС с помощью УФ-спектрофотометрии и ВЭЖХ, а так же проводили исследования растворимости композиции в растворах с различными рН.

Показано, что полученные композиции пророксана с полоксамерами самопроизвольно образуют солюбилизаты с содержанием пророксана, существенно превышающим его собственную растворимость. При этом скорость самодиспергирования обеспечивает достижение растворимых концентраций в солюбилизате за время, близкое времени достижения насыщенной концентрации при растворении чистого пророксана.

Полученная композиция может быть использована в лекарственных препаратах для перорального применения с целью повышения биодоступности пророксана.

Сравнительное изучение цитотоксических свойств бета-спилечных антимикробных пептидов

Емельянова А.А., Калашникова М.Б., Кузьмин Д.В., Пантелеев П.В.,
Баландин С.В., Овчинникова Т.В.

ФГБУН Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
e-mail: annaemelyan@gmail.com

Антимикробные пептиды (АМП) – природные соединения, обладающие широким спектром биологической активности. Для некоторых АМП в экспериментах *in vitro* и *in vivo* показано наличие выраженного противоопухолевого действия. В данной работе был изучен цитотоксический эффект трех катионных β -спилечных антимикробных пептидов: ареницина-1 из полихеты *Arenicola marina*, тахиплезина I из мечехвоста *Tachypleus tridentatus* и гомезина из паука *Acanthoscurria gomesiana*. С помощью МТТ-теста была измерена величина цитотоксического эффекта и определены значения IC_{50} для каждого из трех пептидов на панели опухолевых и нормальных клеточных линий человека. В качестве положительного контроля были проведены эксперименты с классическим противоопухолевым агентом цисплатином. Для определения неспецифической цитотоксичности пептидов был также проведен стандартный гемолитический тест.

Было показано, что все изученные в работе АМП проявляют цитотоксический эффект, величина которого варьирует в зависимости от типа клеточной линии и от присутствия белков сыворотки в среде. Наибольшим терапевтическим потенциалом обладает тахиплезин I. Его цитотоксический эффект не зависит от наличия компонентов сыворотки в среде (в отличие от ареницина) и носит более селективный характер (в отличие от гомезина). Самыми чувствительными клеточными линиями по отношению к тахиплезину I оказались клеточные линии SKBR-3 и HeLa. Было показано, что тахиплезин I и цисплатин действуют на данные опухолевые клеточные линии в сопоставимых концентрациях от 15 мкМ до 17 мкМ. При этом, токсичность тахиплезина I по отношению к нормальным клеткам была на порядок ниже, чем у цисплатина (величины IC_{50} составили 70 мкМ и 7 мкМ, соответственно).

Работа поддержана грантом ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» (соглашение № 14.604.21.0104, уникальный идентификатор RFMEFI60414X0104).



Особенности регистрации ЭКГ суточного мониторинрования у пациентов с фибрилляцией предсердий

Ильин А.В., Кулешов А.П., Потеряхина А.В., Зарецкий А.П.
Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

Фибрилляция предсердий (ФП) вызвана нерегулярной, беспорядочной электрической активностью предсердий, сопровождающейся прекращением эффективной насосной функции сердца. Мерцание предсердий развивается при частоте эктопических импульсов более 400-500 в минуту. При такой частоте возбуждения клетки миокарда не могут ответить синхронным координированным сокращением, охватывающим весь миокард. Отдельные волокна или микроучастки сердца сокращаются беспорядочно по мере выхода их из рефрактерного периода. ФП выявляется у 2% взрослого населения и у 5,9% людей старше 65 лет, причём в последние несколько лет наблюдается тенденция к уменьшению среднего возраста пациентов с ФП. Это наиболее частая причина ишемического инсульта. Кроме того, частый ритм, являющийся результатом ФП, приводит к другим негативным последствиям, включая застойную сердечную недостаточность и обусловленную тахисистолией аритмогенную кардиомиопатию. При этом на ЭКГ при пароксизмальной форме ФП наблюдаются интервалы R-R, различные по протяженности, т. е. отсутствует правильный желудочковый ритм, хотя комплекс QRS не изменен. Также интервалы R-R одинаковы, т.е. ритм желудочковых сокращений правильный (за счет желудочкового автоматизма при полной блокаде АВ-проводимости). Таким образом, ФП клинически характеризуется изменением частоты и ритма периферического пульса, следовательно, необходимым и достаточным условием регистрации пароксизмов является электрокардиограмма в 6 основных отведениях.

Лечение ФП может быть медикаментозным, однако медикаменты обладают ограниченной эффективностью при лечении ФП и могут вызывать ряд серьезных побочных эффектов, включая жизнеугрожающий проаритмогенный эффект. Доказано, что пациентов с пароксизмальной ФП можно лечить методом радиочастотной абляции (РЧА), что является прямой предпосылкой к верификации и диагностированию ФП в ранней стадии, т.е. пароксизмальной форме.

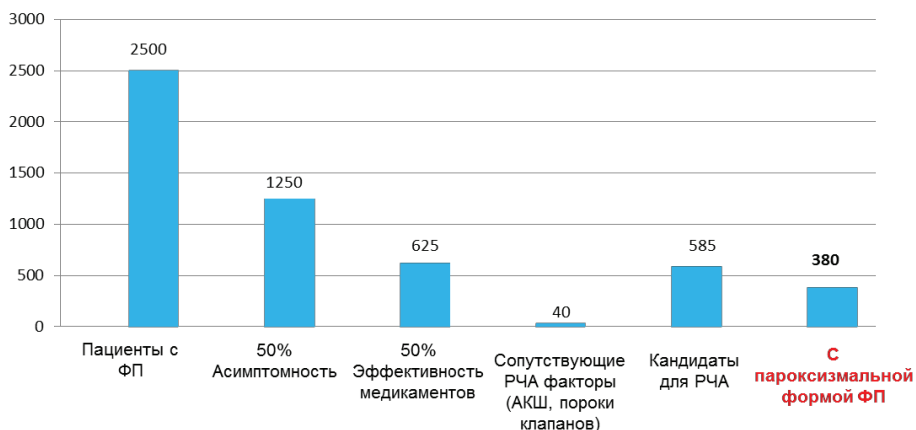


Рисунок 1 — Статистические данные по мультицентровому исследованию, включающему 3000 пациентов с первичным диагнозом «фибрилляция предсердий» (Heart Rhythm, Vol.9., №4, April 2012)

В ряде иностранных исследований, результаты которых были обобщены в рекомендациях по ведению больных с ФП, показано, что пусковым звеном у пациентов с данной формой ФП являются локальные триггеры, обычно расположенные в одной из легочных вен (ЛВ). Однако, при персистирующей форме ФП господствующая теория, объясняющая ее механизм, предполагает наличие множественных волн возбуждения, создающих хаотический сердечный ритм. В таких условиях медикаментозная терапия не является таким же объективно эффективным методом лечения, как при пароксизмальной форме ФП. Таким образом, можно говорить о необходимости выявления и диагностики наличия ФП пароксизмальной формы, с целью максимизации эффективности как медикаментозного, так и хирургического лечения. Не следует забывать о том, что для ранней диагностики ФП пароксизмальной формы требуется использование компактного ЭКГ-регистратора суточного мониторинга сердечной активности, который обладал бы высокими эргономическими показателями, минимизируя дискомфорт пациента, присущий стандартным холтеровским мониторам.

Другой важной особенностью такого устройства должно быть наличие необходимого программного обеспечения, которое позволяло бы верифицировать и диагностировать пароксизмы ФП, их длительность и совокупность факторов, способствовавших запуску тахикардии. Одним из

ключевых моментов, требующих углублённого анализа, является корреляционная взаимосвязь двигательных компонент, гемодинамической составляющей, изменяющейся вследствие увеличения нагрузки на организм в целом, и проявлениями нервной деятельности, вызванными деятельностью симпатического и парасимпатического отделов. При этом важно отметить значительную роль симпатических и парасимпатических влияний, обеспечивающих высокий уровень адаптации ритма сердца, на его регуляцию.

При регистрации и последующем анализе ЭКГ суточного мониторинга у пациентов с пароксизмальной формой ФП необходимо знать сопутствующие патологии обследуемого. Важно сделать замечание о том, что у пациентов с ФП нередко диагностируется наличие гипертонической болезни, при этом необходимо помнить о том, что у таких обследуемых наблюдается преобладание симпатического компонента над парасимпатическим. Поскольку изменённые соотношения симпатического и парасимпатического влияний могут являться причиной нарушения ВСР, то влияние изменений их соотношений необходимо также учитывать при анализе ЭКГ и предикции критических состояний обследуемого. Таким образом, для всестороннего анализа состояния организма при верификации пароксизмальной формы ФП необходимо оценивать такие факторы как: двигательную активность (для оценки физической нагрузки), изменение положения тела по 6 степеням свободы (для верификации пресинкопального и ряда других критических состояний), влажности кожи и температуры тела (для оценки состояния вегето-сосудистой системы и косвенной оценки соотношения симпатической и парасимпатической компонент), и, безусловно, ЭКГ.

Для решения обозначенных задач многофункциональный регистратор должен обладать следующими элементами, входящими в состав общей системы:

- ЭКГ-регистратор;
- GPS-модуль;
- акселерометр;
- гироскоп;
- барометр;
- датчик регистрации кожно-гальванической реакции;
- датчик регистрации температуры тела.

При суточной регистрации ЭКГ и верификации клинически значимых нарушений ритма сердца у обследуемых с зафиксированным пароксизмом ФП необходимо обращать внимание на следующие клинко-диагностически значимые показатели (как оцениваемые по ЭКГ, так и тре-

бующих дополнительных обследований):

- представительная р-волна, зафиксированная при незначительных изменениях координатных значений;
- отсутствие экстрасистол и комплексов с шумовыми помехами;
- продолжительность низкоамплитудной р-волны;
- наличие волны фибрилляции;
- корреляция пароксизма фибрилляции и двигательной активности;
- корреляция пароксизма фибрилляции и изменений кожно-гальванической реакции;
- корреляция пароксизма фибрилляции и изменений температуры;
- наличие инфекционно-воспалительных изменений;
- наличие гиперлипидемии;
- значение международного нормализованного отношения (МНО);
- значение шкалы ТИМІ.

При анализе ЭКГ у пациентов с пароксизмальной ФП важно учитывать ряд требований к характеристикам ресивера сигнала ЭКГ:

- наличие полосно-пропускающего фильтра (ППФ);
- порядок ППФ не ниже 4го;
- полоса пропускания, не менее: 30-300Гц.

Таким образом, имея комплексные показатели функционального состояния организма человека, зарегистрированные одним устройством во время суточного мониторинга, можно говорить об этиологии ФП у конкретного обследуемого и осуществлять предикцию гемодинамически и электрически- значимых нарушений функционального состояния обследуемого.

Бактериофаг-опосредованный биопроцессинг охлажденной рыбы

*Зулькарнеев Э.Р.^{1,3}, Киселева И.А.^{1,2}, Ефимова О.Г.¹, Алешкин А.В.^{1,2}, Афанасьев С.С.¹,
Алешкин В.А.¹, Галимзянов Х.М.³, Рубальский О.В.³, Лозовская М.В.⁴*

¹Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва,

²ООО «БиФаг», Москва

³ГБОУ ВПО «Астраханский государственный медицинский университет»
Минздрава России, Астрахань

⁴ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный университет», Астрахань

Введение. Правильное хранение и применение современных способов обработки, позволяет сберечь пищевую и биологическую ценность рыбной продукции, предохраняя ее от скорой порчи. Применение анти-

биотиков и химических дезинфектантов не решают эту проблему, снижая уровень экологической чистоты продукции и провоцируя появление новой категории патогенов – штаммов условно-патогенных бактерий, резистентных к антибиотикам. Фаг-опосредованный биопроессинг - метод деконтаминации, характеризующийся специфической элиминацией бактериальных клеток-мишеней, находящихся на полуфабрикате, и не влияющий на физические и органолептические свойства обрабатываемой продукции. Целью данного исследования является создание средства биодеконтаминации на основе коктейля бактериофагов, активного в отношении бактериальных патогенов вызывающих порчу охлажденной рыбы.

Материалы и методы. В опыте использовали оригинальные бактериофаги AhVph и PsfVph в титре 108 БОЕ/мл лизирующие *Aeromonas hydrophila* и *Pseudomonas fluorescens* соответственно. В рыбоводческом хозяйстве были отобраны образцы потрошенных тушек свежевывловленной радужной форели. Деконтаминацию опытных образцов рыбы проводили путем погружения тушек на 30 секунд в коктейль бактериофагов. Образцы из контрольной группы деконтаминировали погружением в стерильную дистиллированную воду. Тушки из обеих групп инкубировали при 22°C (для ускорения процесса порчи рыбы) в течение 18 часов. После инкубирования с чешуи и из брюшка рыб осуществляли микробиологический посев на среду «Уриселект-4» (Bio-Rad, США). Результат учитывали через 24 часа термостатирования чашек Петри при температуре 30°C.

Результаты. Среднее значение микроорганизмов, ответственных за порчу охлажденной рыбы, после инкубирования тушек в течение 18 часов при 22°C, полученных с образцов из опытной группы было ниже на четыре порядка (105 КОЕ/г) относительно количества бактерий, выделенных при посеве с тушек из контрольной группы (109 КОЕ/г). Органолептические свойства 50% образцов из опытной группы после ускоренной порчи полностью соответствовали ТР ТС 021/2011, в то время как 100% тушек из контрольной группы по внешнему виду и запаху попадали под определение некондиционного продукта.

Выводы. Проведенное исследование подтверждает возможность снижения бактериальной обсемененности рыбных полуфабрикатов с помощью фаг-опосредованного биопроессинга. Внедрение нового способа биодеконтаминации пищевых продуктов позволяет увеличить сроки их хранения без изменения экологической чистоты и пищевой ценности продукции.

Исследование свойств модульного нанотранспортера эмиттеров электронов Оже с модулем, обеспечивающим присоединение к ядерной ДНК

Цветкова А.Д.¹, Камалетдинова Татьяна Рашидовна²

¹МГУ им. М.В.Ломоносова, Россия, Москва,

²ИБГ РАН, Россия, Москва
nastya-tsvetik@yandex.ru,

Адресная доставка лекарств — одно из наиболее перспективных направлений в современной медицине. Модульные НаноТранспортеры (МНТ) – химерные рекомбинантные полипептиды, способные доставлять переносимые лекарственные вещества в ядра клеток-мишеней, – представляют особый интерес. Конечной целью настоящей работы является создание лекарственного средства для уничтожения раковых клеток на основе МНТ и переносимых ими радионуклидов, эмиттеров электронов (например, ^{111}In , ^{67}Ga). Испускаемые электроны Оже обладают радиусом действия в пределах нескольких десятков нанометров, что обеспечивает локальность оказываемого ими эффекта, однако, вследствие этого, возникает необходимость доставки эмиттеров электронов Оже в непосредственную близость к повреждаемым молекулам (например, молекулы ДНК). Наиболее уязвимым клеточным компартментом для них является ядро. В качестве молекулы-посредника взаимодействия нанотранспортера с молекулой ДНК выбран фактор процессивности полимеразы δ – белок PCNA. Белок представляет собой т.н. скользящую застёжку на цепи ДНК, с которым связываются многие белки, обеспечивающие репликацию и репарацию молекулы ДНК. PCNA обладает повышенным сродством к белку p21 – ингибитору циклин-зависимых киназ -1, -2, -4/6, участвующих в регуляции клеточного цикла, а также осуществляющему остановку репликации путем взаимодействия с PCNA.

Методами генной инженерии в состав МНТ были включены несколько различных по длине фрагментов С-концевого участка белка p21. Была проведена оценка эффективности взаимодействия этих транспортеров с белком PCNA с помощью метода поверхностного плазмонного резонанса.

Из полученных генно-инженерных конструкций были отобраны варианты, имеющие достаточный уровень экспрессии. Были проведены эксперименты, подтверждающие правильность сборки и целостность данных конструкций — секвенирование, денатурирующий электрофорез, вестерн-блот.

Анализ взаимодействия вариантов МНТ-фрагмент p21 с белком

PCNA показал, что константа диссоциации образующихся комплексов в среднем около 10^{-7} М, что согласуется с литературными данными по взаимодействию полноразмерного белка p21 и позволяет судить о том, что присоединение фрагмента p21 к молекуле МНТ, по всей вероятности не сказывается существенным образом на PCNA-связывающих свойствах этого фрагмента. Полученные результаты позволяют заключить, что разработанные химерные конструкции могут быть использованы для доставки эмиттеров электронов Оже в непосредственную близость к ДНК клеток-мишеней.

Матрикс из рекомбинантного спидроина как инструмент для выращивания неонатальных кардиомиоцитов

Крашенинникова А.В.¹, Тепленин А.С.¹, Агладзе Н.Н.¹, Агладзе К.И.¹

¹Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

Полимеры с хорошими механическими свойствами, такие как шелк-содержащие материалы, представляют огромный интерес для тканевой инженерии. Рекомбинантный спидроин - это искусственный материал, сочетающий в себе как отличные адгезионные свойства, так и хорошие механические свойства, а также содержит мотивы распознавания клетками.

Главная задачей являлось изучение адгезионных свойств неонатальных кардиомиоцитов посаженных на спидроиновые подложки из рекомбинантных спидроинов — rS2/12-Linker-RGDS и rS1/9.

Было показано, что неонатальные кардиомиоциты успешно прикрепляются и образуют конфлюэнтный монослой для всех типов спидроинов. Адгезионные исследования показали, что количество кардиомиоцитов, прикрепившихся к рекомбинантному спидроину как содержащие RGDS-мотив, так и без него, оказалось соответственно на 10% и 50% ниже чем на стекла, покрытые фибронектином. Количество неонатальных кардиомиоцитов, прикрепившихся к рекомбинантному спидроину, было соответственно в 10 и 5 раз больше чем к фиброиновому субстрату *Bombix mori*. Полученные результаты показали возможность использования рекомбинантного спидроина в качестве материала для применения в регенеративной медицине.

Исследования включения пророксана в надмолекулярные комплексы разной структуры

А.А. Кудрявцева, Г.О. Нифонтова, П.Н. Пилипенко, С.П. Кречетов
¹ Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный
babaka92@mail.ru

Пророксана гидрохлорид — альфа-адреноблокатор, применяемый для лечения и профилактики заболеваний, в основе которых лежит повышенный тонус периферических сосудов. Пророксан мало растворим в воде и также неустойчив в водных растворах. Вследствие этого препарат имеет низкую биодоступность. Для увеличения биодоступности можно использовать солюбилизацию пророксана в растворе полоксамера или циклодекстрина. В настоящей работе исследовалось взаимодействие пророксана с полоксамером 188 и α -циклодекстрином в водных растворах. Исследования проводились с использованием спектофотометрических и спектрофлуориметрических методов.

Спектрофотометрические исследования проводили в условиях насыщения раствора пророксаном при различных pH (1,2, 6,8, 8,0). Показано существенное увеличение концентрации пророксана в водной фазе с ростом концентрации полоксамера 188, отражающее солюбилизацию субстанции. Повторные исследования через 10, 20, 30 и 90 дней выявили снижение содержания пророксана в солюбилизате с течением времени.

В флуоресцентных исследованиях изучалась собственная флуоресценция пророксана и его взаимодействие с флуоресцентной меткой АНС (8-анилино-1-нафталинсульфонат), которая встраивается в мицеллы полоксамера 188 и образует комплексы с циклодекстринами. АНС интенсивно флуоресцирует в составе указанных надмолекулярных комплексов и практически не флуоресцирует в воде.

Показано, что на флуоресценцию чистого пророксана рост концентрации полоксамера влияет слабо. Наблюдается взаимное тушение пророксана и АНС в присутствии полоксамера, а также тушение флуоресценции пророксана в водных растворах без полоксамера в присутствии АНС. При этом рассчитываемая по уравнению Штерна-Фольмера константа тушения пророксана в присутствии АНС снижается при добавлении полоксамера.

Наличие α -циклодекстрина в растворе ведет к заметному усилению флуоресценции пророксана. Константа тушения пророксана в присутствии АНС, рассчитанная по уравнению Штерна-Фольмера, в растворе α -циклодекстрина выше, чем в растворе полоксамера и водных раство-



рах, без надмолекулярных комплексов.

Биофармацевтические и технологические подходы к разработке офтальмологических гелей на примере геля эмоксипина

И.В. Лапик, М.Н. Анурова, С.П. Кречетов

Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный
ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ, г. Москва
lap1991@ya.ru

Офтальмологические (глазные) гели — перспективная лекарственная форма, применяемая для местной терапии в офтальмологии.

К офтальмологическим гелям предъявляются следующие требования:

- гели должны быть однородными (составные компоненты должны равномерно распределяться в основе) и прозрачными;
- гели должны сохранять стабильность в течение всего срока годности, предусмотренного нормативной документацией;
- гели должны иметь необходимые структурно-механические свойства (легко выдавливаться из туб, легко намазываться, равномерно распределяться и хорошо фиксироваться на поверхности);
- показатель преломления должен быть близок к показателю преломления роговицы и слезной пленки и находиться в пределах от 1,33 до 1,40;
- стерильность;
- отсутствие механических включений;
- гели не должны оказывать раздражающего и сенсибилизирующего действия;
- pH в диапазоне от 7,3 до 7,5;
- такие гели должны хорошо фиксироваться и легко удаляться с поверхности, на которую наносятся.

Преимущества офтальмологических гелей:

- воздействие на кислородный обмен в роговице, способствуя быстрому заживлению;
- гели оптически прозрачны, а значит, не создают трудностей при фокусировании зрения;
- гели имеют способность прочно прикрепляться к роговице, тем самым создавая непрерывное выделение активного вещества в пораженные ткани;
- гели обеспечивают стабильность слизистой жидкой пленки;
- в случае необходимости существует возможность сочетания с иными офтальмологическими препаратами и антибиотиками.

Актуальной на данный момент является разработка офтальмологического геля, содержащего в своем составе эмоксипин, в связи с: безопасностью и удобством его применения, уменьшением побочных эффектов, экономией времени пациента, отсутствием необходимости обращения к медицинским работникам (в отличие от применения раствора для инъекций). Данную форму особенно удобно применять в послеоперационный период у больных глаукомой и в хирургической практике.

В связи с вышеперечисленным, работа по созданию офтальмологического геля эмоксипина является перспективной, и ее результаты могут быть использованы в практической фармации.

В результате работы разработан состав офтальмологического геля эмоксипина в соответствии с общими принципами разработки состава и технологии гелей, обладающий удовлетворительными агрегативными и реологическими характеристиками. Следующим этапом исследования планируется биофармацевтическое изучение полученных экспериментальных образцов.

Эффекты β -каротина и фукоксантина на параметры продолжительности жизни *Drosophila melanogaster* и *Caenorhabditis elegans*

Лашманова Е.,¹ Плюснина Е.,² Марусич Е.¹,
Леонов С.¹, Москалев А.^{1,2}

¹Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

²Лаборатория Молекулярной Радиобиологии и Геронтологии,
Институт Биологии, Коми научный центр, Уральское отделение РАН, Сыктывкар

E-mail: ekaterinalashmanova@yandex.com

Перспективным направлением борьбы со старением является поиск фармакологических веществ, способных увеличить продолжительность жизни путем влияния на генные сети. Каротиноиды — это биоактивные вещества, входящие в человеческую диету. Имеются данные, что каротиноиды обладают не только антиоксидантной активностью, но также способны модулировать сигнальные пути, включая инсулиновый/IGF-1 сигналинг, играющий важнейшую роль в процессе старения.

Целью данного исследования было изучить эффекты двух каротиноидов (β -каротина и фукоксантина) на параметры продолжительности жизни *Drosophila melanogaster* и *Caenorhabditis elegans*. В экспериментах использовались дикие линии *Dr. melanogaster* (Canton-S) и *C. elegans* (N2).



Опытные мухи содержались в стандартных условиях (25°C) на питательной среде. Исследуемые вещества добавлялись в конечных концентрациях 0,3, 0,5 и 1 мкМ. Эксперименты на нематодах проводились в 96-луночных планшетах с жидкой средой при 20 °С. Каротиноиды добавлялись в среду в концентрациях 0,3, 0,5, 0,7, 1 и 5 μМ. На дрозофилах дополнительно исследовалось влияние веществ на стрессоустойчивость (голодание, тепловой шок (35°C), окислительный стресс (20 мМ паракват)) и экспрессию ряда генов.

Добавление фукоксантина и β-каротина увеличивало среднюю продолжительность жизни самок дрозофил на 9-19% и 10% (P<0.001). У самцов эффекты при добавлении изучаемых веществ были менее выражены. Увеличение средней продолжительности жизни на 12,3% наблюдалось также у нематод при добавлении фукоксантина в концентрации 5 μМ (P<0.001). β-каротин не повлиял на параметры продолжительности жизни нематод. Добавление фукоксантина и β-каротина в питательную среду дрозофилам приводило к увеличению экспрессии генов, участвующих в детоксикации свободных радикалов (Sod1), репарации ДНК (Mus210, Gadd45, XRCC3) и стресс-ответе (Hsp70), в 1,7-5,8 раз. В опытах на окислительный стресс добавление каротиноидов в большинстве случаев приводило к увеличению стрессоустойчивости особей, что подтверждает антиоксидантные свойства данных веществ.

Таким образом, фукоксантин оказывает положительное действие на параметры продолжительности жизни *Drosophila melanogaster* и *Caenorhabditis elegans*, что свидетельствует о влиянии данного вещества на эволюционно-консервативные механизмы старения. Положительный эффект β-каротина был выявлен только при добавлении в пищу дрозофилам. Отсутствие реакции нематод на добавление в среду культивирования β-каротина возможно связано с его низкой растворимостью и соответственно слабым поглощением червями.

Современный взгляд на методологические основы сравнительного теста кинетики растворения для твердых дозированных лекарственных форм

Львова А.А., Шохин И.Е., к.фарм.н., Малашенко Е.А., Медведев Ю.В., Болдина Е.Ю.,
Меньшикова Л.А., Комаров Т.Н.
ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова
lvova_anna523325@mail.ru

При разработке лекарственного препарата одним из инструментов

для оценки его свойств, влияющих на биодоступность, является тест «Растворение». Тест «Растворение» применяется на различных этапах жизненного цикла лекарственного средства: при фармацевтической разработке (обоснование состава и лекарственной формы), исследовании посерийной однородности и стабильности, выборе серии клинического кандидата, как дополнение или замена исследований биоэквивалентности, при посерийном контроле качества, а также при масштабировании производства и пострегистрационных изменениях. Понятие «сравнительный тест кинетики растворения» (СТКР) отличается от фармакопейного теста «Растворение», т.к. его цель заключается в подтверждении эквивалентности профиля растворения исследуемого препарата по отношению к препарату сравнения, как правило, оригинальному, в условиях, близких к физиологическим условиям желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

На основании опыта исследований нами была предложена схема проведения СТКР, состоящая из трех этапов. Грамотное выполнение каждого из этих трех этапов в конечном итоге определяет достоверность результатов всего испытания в целом: планирование исследования, выполнение исследования, интерпретация результатов и подготовка отчетности. Первый этап при исследовании СТКР заключается в планировании самого исследования. «Руководство по экспертизе лекарственных средств», т.1 описывает два основных вида СТКР: тест «Растворение» *in vitro* как дополнение к исследованиям биоэквивалентности и тест «Растворение» *in vitro* как замену исследования биоэквивалентности для дополнительных дозировок лекарственного средства (ЛС). Следует отметить, что по сравнению с методическими указаниями 2008 г. требование по проведению СТКР как дополнения к исследованиям биоэквивалентности приводится впервые. Нерастворимость или нестабильность лекарственного вещества (ЛВ) в одной или нескольких средах должна быть обоснована, в данном случае возможен отказ от одной или нескольких сред растворения. Из практики лаборатории фармакокинетики и лекарственных форм это: темозоломид, метилдопа (нестабильность при pH 6,8), розувастатин (нестабильность при pH 1,2), ибупрофен (отсутствие высвобождения при pH 1,2), бикалутамид, бозентан (отсутствие высвобождения во всех средах, кроме среды контроля качества (КК) с ПАВ в составе) и многие другие. СТКР рекомендуется проводить в трех средах растворения, моделирующих основные разделы ЖКТ, в которых происходит распад, высвобождение и абсорбция активного ингредиента. Обычно это 0,2 % раствор натрия хлорида в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты pH 1,2 – имитирует кислотность в желудке натощак, ацетатный буферный раствор pH 4,5 – имитирует значение pH в верхнем отделе тонкого кишечника и фосфатный буферный раствор pH 6,8 – имитирует pH в среднем отделе



тонкого кишечника. Для оптимального выбора временных точек можно воспользоваться открытой базой данных FDA Dissolution database. При интерпретации результатов исследования необходимо провести: оценку правильности выбора временных точек; оценку достоверности результатов исследования (по RSD); оценку эквивалентности профилей растворения, а также экспертную оценку результатов исследования (допустимость смены дизайна, установление возможных причин неэквивалентности, рекомендации спонсору исследования и т.д.). Оформление отчетности следует проводить согласно последним рекомендациям т.3 «Руководство по экспертизе лекарственных средств», 2014 г., обязательно сопровождает отчет о СТПР 100 % первичных данных (хроматограммы, спектры) и валидационным отчетом методики количественного определения.

Изучение на модели *C. elegans* способности новых ингибиторов PI3K к продлению жизни

Д. Овчаренко¹, Е. Марусич¹, Е. Лашманова², А. Москалев², С. Леонов¹

¹Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

²Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар

Ежедневно на земле умирает 150 тысяч человек, из них две трети от возраст-зависимых патологий. Важно отметить, что даже в развитых странах 90 % случаев смерти объясняются именно этими причинами. Увеличение средней продолжительности жизни населения является приоритетной задачей государственной политики. Важным направлением в изучении процессов старения является поиск лекарственных средств, увеличивающих продолжительность жизни и направленных против возраст-зависимых заболеваний. Нематода *Caenorhabditis elegans* является перспективной и широко используемой биологической моделью для скрининга больших библиотек химических соединений с потенциальными геропротекторными свойствами. Результаты, полученные на нематодах, можно использовать в отношении человека, поскольку данные секвенирования нематод показали наличие многочисленных генов, ответственных также за старение у человека.

Фосфатидилинозитол-3-киназа (PI3K) является одним из важнейших регуляторных белков, контролирующими ключевые функции клетки. Способность PI3K контролировать пролиферации и апоптоз клеток, послужила стимулом для изучения роли PI3K в регуляции важнейшей особенности клеток — старения.

Мы изучали влияние специфических ингибиторов PI3K на продолжительность жизни на модели *C. elegans*. Целью исследований было получение полного набора данных по геропротекторной активности хитов, найденных нами в ходе первичного скрининга на нематодах 62 новых ингибиторов PI3K. Исследование проводили по следующим направлениям:

- Определение оптимальной концентрации каждого хита, при которой детектируется его максимальный геропротекторный эффект;
- Подтверждение геропротекторного эффекта отобранных хитов в культуре клеток фибробластов человека;
- Подтверждение геропротекторного эффекта отобранных хитов по уменьшению накопления липофусцина по сравнению с контрольными группами.

Скрининг ингибиторов PI3K проводили в жидкой S- среде, в 96-луночных планшетах на синхронизованных червях в присутствии *E. Coli* OP-50 и FUDR. Химические вещества тестировали в 6 повторах в 5 концентрациях 0.001 μM , 0.01 μM , 0.1 μM , 1 μM и 10 μM . Мониторинг выживаемости нематод проводили визуально, подсчитывая три раза в неделю число живых/мертвых особей.

Геропротекторные свойства отобранных хитов подтверждали в культуре стареющих клеток фибробластов человека (линия клеток ФЛЭЧ), инкубируемых в присутствии этих химических соединений. Критерием оценки была детекция активности бета-галактозидазы, накопление которой в клетке является общепризнанным признаком старения. Клетки, инкубируемые в присутствии тестируемых ингибиторов PI3K и подавляющих бета-галактозидазу, сравнивали с контрольными клетками. Бета-галактозидазу идентифицировали по прокрашиванию X-Gal (β -Galactosidase Staining Kit #9860).

Отобранные хиты также тестировались по их влиянию на накопление липофусцина в теле нематод. Липофусцин — хорошо известный маркер старения. Эксперимент проводили в 384-луночных планшетах, в жидкой S-среде, в присутствии тестируемых соединений в 0.1 μM и 10 μM концентрациях. Уровень накопления липофусцина детектировали на приборе Image Xpress, проводя съемку живых нематод 2 раза в неделю.

Наши исследования подтвердили, что соединение G5, отобранное нами в качестве наиболее перспективного среди тестируемых хитов, обладает наиболее сильным геропротекторным действием и продлевает жизнь нематод *C. elegans* на 28,3% , по сравнению с позитивным контролем — геропротектором метформинном, продлевающим жизнь нематод в тех же условиях только на 21,7% . Таким образом, нами было найдено но-



вое химическое соединение, которое может рассматриваться в качестве кандидата в дальнейших исследованиях по проблемам продолжительности жизни и старения человека.

Создание аналогов антимикробного пептида тахиплезина с повышенной селективностью действия

П.В. Пантелеев, Т.В. Овчинникова

ФГБУН Институт биоорганической химии

им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

E-mail: ibch@inbox.ru

В последние годы среди регистрируемых терапевтических средств стремительно растет доля соединений на основе биологически активных пептидов. Особый интерес среди них представляют антимикробные пептиды (АМП) — ключевые молекулярные факторы системы врожденного иммунитета большинства многоклеточных видов, включая человека. Широкое внимание к АМП обусловлено, в первую очередь, их мембранотропным механизмом действия и способностью быстро уничтожать клетки-мишени, что сводит к минимуму вероятность развития резистентности со стороны микроорганизмов. К числу наиболее активных и устойчивых к действию протеаз АМП животного происхождения относятся молекулы, образующие стабилизированную дисульфидными связями β -шпильчатую структуру. Однако сравнительно высокая цитотоксичность природных пептидов ограничивает их применение в медицине.

В данной работе с помощью методов направленного мутагенеза и гетерологической экспрессии в бактериальной системе была разработана эффективная технология биосинтеза в составе телец включения и очистки рекомбинантных аналогов β -шпильчатого АМП тахиплезина из подковообразного краба *Tachypleus tridentatus*. В ходе работы проводилась оценка влияния отдельных гидрофобных остатков в структуре пептида на селективность действия природного тахиплезина. В результате сравнительного анализа активности *in vitro* в отношении бактериальных клеток и клеток млекопитающих был обнаружен малотоксичный аналог тахиплезина, проявляющий высокую активность в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, в том числе к штаммам, устойчивым к применяемым в клинической практике конвенциональным антибиотикам.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (соглашение № 14-50-00131).

Поиск и адаптация нанороботов и клеток

Режабек Б.Г.,

Международный Университет Междисциплинарных Знаний МОИП., г. Москва

Ни в какой мере не нарушая фундаментальных законов физики, организация процессов в живой клетке начиная с уровня активных надмолекулярных систем («нанороботов») отличается принципиально от организации процессов в простых химических и физических системах. В живых системах действует Принцип Устойчивого Неравновесия (Э.Бауэр, 1935). Наличие избытка свободной энергии и способность её использовать в регулировании клеточных процессов лежит в основе поисковой активности и целенаправленного поведения как целостной клетки, так и её подсистем. Эта активность является основой науки о поведении живых клеток — «Цитоэтологии» (В. Я. Александров, 1972). Приводятся примеры поисковой активности и адаптации на ряде конкретных примеров.

Влияния иммуностропных препаратов на состояние кислородзависимой бактерицидности нейтрофилов в фотометрическом НСТ тесте

Савилова А.Г.^{1,2}, Огурцов Д.П.¹, Добровольская Е.И.¹

¹ ФГБУН «НИИ Физико-химической медицины» ФМБА России, Москва

² Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

За последнее время в связи с возросшим числом неблагоприятных факторов внешней среды произошло значительное увеличение лиц с вторичными иммунодефицитными состояниями (ВИС). Важное место в комплексном лечении ВИС отводится иммунокорректирующей терапии. Разнообразие клинических форм вторичных иммунодефицитов делает необходимым проведение корректного анализа влияния иммуностропных препаратов на функциональную активности нейтрофилов, который может способствовать назначению корректной лекарственной терапии. В последние годы фотометрический тест восстановления нитросинего тетразолия (НСТ – тест) стал одним из важных методических подходов ввиду упрощения его постановки и большей надежности по сравнению с визуальным НСТ- тестом. Тест отражает суммарную продукцию активных форм кислорода нейтрофилами.

Целью нашего исследования явилось изучение влияние иммуно-



тропных препаратов на активность нейтрофильных гранулоцитов (нейтрофилов) периферической крови с помощью фотометрического НСТ-теста. В задачи исследования входило оценить влияние иммуностропных препаратов показатели НСТ-теста, сравнить влияние препаратов внутри групп колониестимулирующих факторов и интерферонов/индукторов интерферонов

Для исследования были выбраны следующие препараты: альфа-глутамил-триптофан, тимуса экстракт, интерферон альфа-2b и меглюмина акридонацетат. Было проведено сравнительное исследование эффекта иммуностропных препаратов на кислородзависимую бактерицидность нейтрофилов у 1068 больных вторичными иммунодефицитами по НСТ-тесту в цельной крови *in vitro*. Оценивали спонтанный и индуцированный *Staphylococcus aureus* НСТ-тест, рассчитывали индекс стимуляции (ИС) нейтрофилов – отношение показателей индуцированного НСТ-теста к показателю «покоящихся» клеток – спонтанного НСТ-теста. Предварительно проводили инкубацию крови с исследуемыми препаратами в течение 30 минут при 37°C.

В связи с существенным разбросом показателей теста, для дальнейшего анализа полученных данных, при изучении обеих пар препаратов было целесообразно разделить пациентов на три группы. У пациентов с исходными значениями спонтанного, индуцированного НСТ-теста и ИС ниже нормы, все исследуемые препараты, за исключением меглюмина акридонацетата достоверно нормализовали показатели активности нейтрофилов. В группе пациентов с исходно нормальными показателями НСТ- теста только интерферон альфа-2b и меглюмина акридонацетат оказывали на него достоверное влияние, незначительно снижая спонтанную активность нейтрофилов. В группе пациентов с изначально повышенной активностью нейтрофилов интерферон альфа-2b и меглюмина акридонацетат достоверно влияли только на ИС нейтрофилов, в то же время колониестимулирующие факторы нормализовали все показатели теста.

Таким образом, все выбранные нами иммуностропные препараты вызывают сравнимое друг с другом нормализующее влияние на изначально высокоактивные нейтрофилы, а также умеренное повышение активности исходно низкоактивных нейтрофилов. При этом интерферон альфа-2b и меглюмина акридонацетат в отличие от других исследованных препаратов вызывал небольшое снижение исходно нормальной активности нейтрофилов, что демонстрирует важность предварительной индивидуальной *in vitro* диагностики при терапии иммунокорректорами.

Моделирование в реальном времени: деформация мягких тканей

Саламатова В.

Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный
salamatova@gmail.com

Развитие новых технологий в медицинской области, таких как дистанционная хирургия, виртуальные хирургические симуляторы, привели к повышенному интересу к вопросу моделирования деформирования мягких тканей. Основными требованиями к их моделированию являются скорость вычислений, возможность решения задач в режиме реального времени и корректное описание механического поведения мягких тканей при различных нагрузках.

Живые ткани проявляют крайне нелинейные свойства, и использование законов механики сплошной среды для описания их механического поведения приводит к системам уравнений, которые могут быть решены только численно. Это может требовать существенного количества времени для вычислений, а порой системы вообще невозможно разрешить из-за численной неустойчивости. Таким образом, в последние годы развиваются различные подходы для моделирования деформирования мягких тканей. Данный доклад является кратким обзором некоторых из существующих подходов, их достоинств и недостатков.

Методы моделирования механического поведения мягких тканей можно условно разделить на две группы: сеточные и бессеточные методы. Одним из наиболее популярных сеточных методов является метод представления упругого тела с помощью пружин и масс (mass-spring models, MSM). Этот метод очень привлекателен с точки зрения быстроты расчетов, однако остается нерешенным вопрос подбора параметров для MSM при известных упругих константах имитируемого материала. Недавно для случая материала Сэн-Венана-Кирхгоффа был предложен метод, который решает данную проблему. Этот подход может быть применен для других видов гиперупругих материалов.

Другим перспективным методом для моделирования деформирования мягких тканей является метод, основанный на фреймах (frame-based elastic method). Данный метод является бессеточным, и его основная идея состоит в представлении деформации упругого материала как взвешенное движение фреймов. В методе, основанном на движении фреймов,



эффективно связываются подходы компьютерной графики и принципы механики сплошной среды, что позволяет в разы уменьшить число степеней свободы и решать задачи в режиме реального времени для гиперупругих материалов.

Подводя итог, можно отметить, что методы моделирования деформирования мягких тканей активно развиваются. Данные методы не столь точны по сравнению с методами конечно-элементного моделирования, но их разработка с точки зрения решения задач в режиме реального времени весьма перспективна.

Разработка клеточной модели для изучения патогенеза болезни Альцгеймера

*Смирнова А.Н¹, Бушков Н.А¹, Чупров-Нетоцин Р.Н¹, Татарникова О.Г²,
Марусич Е.И¹, Бобкова Н.В², Леонов С.В¹*

¹Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный
²Институт биофизики клетки Российской академии наук,
г. Пущино

Болезнь Альцгеймера (БА) — это одно из самых распространенных в мире нейродегенеративных заболеваний. На сегодняшний день причины возникновения и механизм протекания этой болезни не до конца изучены, а также не существует эффективного метода лечения и профилактики этого заболевания. Среди рабочих гипотез возникновения болезни Альцгеймера широкое распространение в последнее время получила «Тау-гипотеза», согласно которой высокомолекулярные олигомерные формы и нейрофибриллярные клубки, содержащие агрегаты Тау-белка, приводят к нейродегенеративным изменениям в мозге. В связи с этим, особенно актуальной задачей является изучение влияния полимеризации белка Тау на клеточных моделях.

Целью работы явилась разработка клеточной модели для оценки цитотоксического эффекта Тау, секретированного клетками полученной линии для изучения Тау-зависимых механизмов патогенеза болезни Альцгеймера. Модель базируется на клеточной линии фибробластов мыши (3T3-4R-Taу), постоянно экспрессирующей 4R изоформу человеческого полноразмерного белка Тау. Эта линия в дальнейшем используется либо для изучения токсичности и инфекционности секретлируемого полноразмерного человеческого Тау-белка в отношении других клеток (например, нейронов мыши), либо для изучения влияния внеклеточных факторов (например, окислительного стресса, олигомеров амилоидного пептида 42 человека и т.д.) на процесс внутриклеточной и внеклеточной (при секреции) полимеризации этого белка 3T3-4R-Taу клетками.

Нами была получена такая линия клеток, и стабильная экспрессия белка Тау была подтверждена с помощью иммунофлуоресцентного анализа на основе моноклональных антител. В экспериментах совместного культивирования с первичными нейронами гиппокампа головного мозга мыши была показана цитотоксичность различных форм белка Тау на эти нейроны.

Полученные нами экспериментальные данные о цитотоксическом эффекте белка Тау на первичные нейроны мыши являются важным подтверждением «Тау-гипотезы» развития патологического процесса в мозге и позволяют надеяться на успешное использование данной клеточной модели для поиска различных агентов, тормозящих развитие этого процесса у больных БА.

Анализ данных RNA-seq и *de novo* сборки транскриптома иглокожих

Снежкина А.В.¹, Садритдинова А.Ф.², Жикривецкая С.О.¹, Смуров А.О.³, Москалев А.А.¹

¹Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

²Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П. А. Герцена Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

³Зоологический институт Российской академии наук, Санкт-Петербург

Иглокожие используются в качестве экспериментальных моделей для гистологических и цитологических исследований, в том числе геронтологически направленных, так как характеризуются выдающимся регенерационным потенциалом, замедленным старением и высокой продолжительностью жизни (более 30 лет). *Asterias rubens* (*Echinodermata*, *Asteroidea*) является наиболее распространенной морской звездой, обнаруженной в северо-атлантическом регионе. Нами была проведена сборка *de novo* транскриптомных данных тканей пилорического региона слепой кишки *A. rubens* в условия теплового шока и нормальных.

В исследовании был использован биологический материал тканей пилорического региона слепой кишки *A. Rubens* нормальных взрослых индивидов (2 образца) и индивидов, подвергнутых тепловому шоку (3 образца: воздействие температур 25°C, 27°C и 29°C в течение 30 минут). Высокопроизводительное секвенирование транскриптома этих образцов производилось с помощью Illumina GAllx. Двуконцевые риды длиной в 75 нуклеотидов были получены в количестве 55 миллионов в каждом образце. Риды были собраны в контиги, информация о которых была использована для дальнейших процедур по сборке транскриптома с помощью



программного обеспечения Velvet/Oases и SOAPdenovo-Trans. Анализ дифференциальной экспрессии был проведен с использованием пакета edgeR для программной среды R.

Нами была создана кДНК-библиотека, содержащая expressed sequence tags (ESTs). В общей сложности было получено 64353659 (содержание GC — 41.3%) и 65736227 (содержание GC — 40.5%) ридов для образцов, полученных в нормальных условиях, и 52564853 (содержание GC — 38.7%), 63701525 (содержание GC — 47.4%) и 55785208 (содержание GC — 60.2%) ридов для образцов индивидов, подвергшихся воздействию теплового стресса (третий, четвертый и пятый образцы соответственно). Длина фрагментов k-mer оценивалась с помощью программного обеспечения kmergenie. Нами были получены оптимальные длины k-mer, равные 18, 19, 24, 21 и 16. Общее количество транскриптов составило 168189 (N50 — 885) для образца 1, 83053 (N50 — 610) для образца 2, 152204 (N50 — 512) для образца 3, 130459 (N50 — 1369) для образца 4 и 88577 (N50 — 469) для образца 5. Максимальная длина транскриптов оказалась равной 13943 — 14100 пн для образца 1, 7337 — 8796 пн для образца 2, 12450 — 13631 пн для образца 3, 10302 — 11743 пн для образца 4 и 15284 — 14385 пн для образца 5. Таким образом, нами было получено около 21093 генов. В качестве референса для сборки был использован транскриптом *Strongylocentrotus purpuratus*. Для определения границ между экзонами и интронами был использован транскриптом *Caenorhabditis elegans* в качестве референсного и программное обеспечение Augustus. Различия в транскриптах, полученных в нормальных условиях и в условиях теплового шока, позволили нам определить несколько генов-кандидатов в дифференциально-экспрессированные и в референсные гены для *A. rubens*. Данные о дифференциально экспрессированных генах в условиях теплового стресса могут быть необходимы для понимания механизмов гомеостаза, регуляции апоптоза и старения, которое у иглокожих, в свою очередь, сопровождается снижением устойчивости к стрессам, вызванным изменениями в условиях окружающей среды.

Поиск сайтов связывания ДНК-гиразы

Сутормин Д.А.

Институт биологии гена РАН, г. Москва

Отрицательная суперспирализация молекул ДНК необходима для протекания множества важных клеточных процессов: транскрипции, репликации, компактизации ДНК, деления клеток. У прокариот ключевым



ферментом, создающим отрицательные супервитки, является топоизомераза класса II – гиразы. Каталитический цикл гетеротетрамерного комплекса гиразы (A2B2) заключается в том, что фермент вносит временный двухцепочечный разрыв в ДНК, через который проносится другой фрагмент нуклеиновой кислоты, после чего разрыв восстанавливается. Гиразы являются мишенью многих антибиотиков. Большинство соединений имеют схожий механизм действия, состоящий в стабилизации промежуточного комплекса ДНК с гиразой в момент, когда А субъединицы фермента ковалентно связаны с концами временного разрыва в нуклеиновой кислоте. Блокирование комплекса в данном состоянии приводит к накоплению двухцепочечных разрывов в ДНК и гибели клеток. Для гиразы известно существование предпочтительных сайтов связывания с ДНК (фаг М₁, рUC19, рSC101), однако существование подобных сайтов на бактериальной хромосоме не показано.

Целью данной работы была разработка и экспериментальная проверка метода поиска специфичных сайтов связывания гиразы с ДНК, применимого для полногеномного анализа.

В основе метода лежит описанное выше явление стабилизации ковалентных комплексов ДНК с гиразой в результате действия некоторых антибиотиков или токсинов. Если реакционную смесь (или бактериальные клетки), содержащие антибиотик, обработать ультразвуком в присутствии SDS, то фермент диссоциирует с сохранением ковалентной связи между 5'-фосфатом и тирозином каталитического центра субъединиц А. Последующая аффинная очистка соответствующей субъединицы позволяет выделить и секвенировать связанные с гиразой фрагменты ДНК. Данные последовательности точно маркируют сайт связывания белка.

На данном этапе нами была разработана система *in vitro* для определения сайтов связывания гиразы с плазмидами (рBR322, рUC19, рMP1000), ингибирование производилось ципрофлоксацином. В экспериментах были использованы субъединицы А и В конъюгированные со SPA тагом, что позволяло проводить очистку той или иной субъединицы из реакционной смеси на M2-FLAG агарозе.

Было показано специфическое совместное выделение субъединиц А и ковалентно связанных с ними фрагментов ДНК, соответствующих области сайта связывания. Для плазмиды рUC19 было выявлено 2 “сильных” сайта связывания гиразы, один из которых совпадает с описанным в литературе.

В дальнейшем планируется использование данного метода для изучения распределения ДНК-гиразы по геному *E.coli* с использованием методов NGS. Для этого предполагается использовать штаммы, несущие на хромосоме гены субъединиц гиразы – GyrA и GyrB, слитые с последовательностями SPA-тага.



Моделирование распространения возбуждения в синоатриальном узле сердца

Толстокоров А.С.^{1,2}, Сюняев Р.А.^{2,3}, Алиев Р.Р.^{1,2,3}

¹ Московский физико-технический институт, Долгопрудный

² НИИ кардиологии ФГБУ Федерального научно-клинического центра Федерального медико-биологического агентства России, г. Москва

³ ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (ИТЭБ РАН), Пущино

E-mail: roman.syunyaev@gmail.ru

При помощи детальной математической модели электрической активности синоатриального узла (СУ) сердца млекопитающих и прилегающей ткани предсердий исследовали синхронизацию колебаний и распространение возбуждения в СУ. Обнаружено, что однородное распределение фазы колебаний в СУ нарушается со временем, что приводит к формированию одного или нескольких ведущих центров. При суперфузии ацетилхолина происходит смещение ведущего центра. Смещение носит характер не плавного сдвига (миграции) точки наиболее ранней активации, а переключения между потенциальными ведущими центрами в ткани СУ.

Обнаружено, что при задании специальных начальных условий в СУ формируются вращающиеся волны возбуждения, называемые в кардиологии реентри. При формировании реентри наблюдается увеличение частоты колебаний клеток СУ и предсердий. Стабильность реентри существенно зависит от проводимости щелевых контактов между клетками СУ. Исследовано распределение амплитуд колебаний трансмембранного потенциала и основных ионных токов при распространении вращающихся волн возбуждения: амплитуда колебаний понижена вблизи центра вращения, в ядре реентри. Показано, что при локальной аппликации ацетилхолина область аппликации может притягивать центр вращения и таким образом стабилизировать реентри.

Динамика распространения возбуждения имеет различную природу в случаях, описанных выше. При наличии в СУ выделенного ведущего центра, в среде распространяются фазово-диффузионные волны: скорость распространения таких волн может быть велика, основным деполяризующим током во время фазы начальной медленной деполяризации является ток через HCN каналы. При формировании реентри, в среде распространяются триггерные волны, скорость распространения которых относительно мала;

основным деполяризующим током во время фазы начальной медленной деполяризации является ток через щелевые контакты.

Мы исследовали влияние на ритмогенез в СУ фибробластов и соединительной ткани, которые составляют значительную часть объема СУ, с учетом электрического взаимодействия фибробластов с клетками-водителями ритма. Обнаружено, что взаимодействие с фибробластами через щелевые контакты увеличивает частоту и уменьшает амплитуду колебаний водителей ритма вплоть до подавления спонтанной активности. Таким образом, фибробласты могут оказывать влияние как на формирование ведущих центров в ткани синоатриального узла, так и на распространение вращающихся волн возбуждения.

Анализ влияния когнитивной нагрузки на мозговую активность человека

Шевчуков И. Г.¹, Шишелова А.Ю.^{1,2,3}, Алиев Р.Р.^{1,4,5}

¹ Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

² Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, г. Москва

³ ФГБУН, Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, г. Москва.

⁴ ФГБУН, Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино,

⁵ Федеральный научно-клинический центр ФМБА, г. Москва.

igor.shev4@gmail.com

Цель работы — исследование специфичности паттернов биоэлектрической активности головного мозга человека при решении когнитивных задач трёх типов: пространственно-образных, логических и арифметических. Эксперимент состоял из нескольких этапов. На первом этапе у обследуемого проводили диагностику функционального состояния посредством оценки сенсомоторных реакций и вариационной пульсометрии. Регистрацию сердечного ритма также повторяли во время решения когнитивных задач. ЭЭГ-активность регистрировали в отведениях Fp1, Fp2, F3, F4, C3, C4, Cz, O1, O2 с использованием портативного носимого электроэнцефалографа-регистратора Энцефалан-ЭЭГР-19/26 (“Медиком МТД”). Запись ЭЭГ осуществляли в положении сидя, при следующих состояниях: в покое при закрытых и открытых глазах до и после когнитивной нагрузки, при решении когнитивных задач. Записи ЭЭГ обрабатывали с помощью вейвлет-преобразования. Оценивали динамику спектральной мощности ЭЭГ при решении каждой задачи с последующим анализом гистограмм распределений доминирующей частоты, мощности ритма на доминирующей частоте и амплитуды максимального пика мощности ритма во время решения каждой задачи.



Показано, что при когнитивной нагрузке у испытуемых ($n=5$) возрастало психоэмоциональное напряжение, что проявлялось в увеличении ЧСС и снижении вклада парасимпатических регуляторных влияний в вариабельность сердечного ритма. Для ЭЭГ-ритмов, связанных с решением когнитивных задач (θ , β , γ ритмы), при умственной нагрузке доминирующая частота находилась в области нижней границы диапазона соответствующего ритма. Для β - и γ -ритмов при когнитивной нагрузке было характерно подавляющее доминирование их низкочастотных составляющих (более 90% значений). Однако при решении логических и арифметических задач в отведениях O1 и O2 в полосе γ -ритма было выявлено также 25% волн с большей частотой (33 Гц). Наиболее выраженное преобладание низкочастотных колебаний θ -ритма наблюдалось для центральных и фронтальных отведений при решении арифметических задач. Доминирование низкочастотных волн в диапазоне α -ритма было выявлено во фронтальных отведениях. Амплитуды максимальных пиков мощности θ -ритма были наибольшими во фронтальных отведениях и Cz, α -ритма — центральных и затылочных, β - и γ -ритма — в C4 и затылочных. Наиболее специфичное зональное распределение амплитуд максимальных пиков и мощностей ритмов на доминирующей частоте наблюдалось в ситуации решения пространственно-образных задач. Установлено, что при когнитивной нагрузке характерно доминирование низкочастотных составляющих в ритмах ЭЭГ и различие зональных паттернов мощности ритмов при решении когнитивных задач разных типов.

Сегментация изображений и трёхмерная реконструкция для биомедицинских задач

Данилов А.А.^{1,2}, Юрова А.С.^{1,3}, Василевский Ю.В.^{1,2,3}, Ефимов И.П.^{1,4},

¹ Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

² Институт вычислительной математики РАН, Москва

³ Московский государственный университет им. Ломоносова, Москва

⁴ George Washington University, USA

Сегментация медицинских изображений является одним из ключевых этапов в решении многих задач биомедицины. Процесс сегментации состоит в приписывании каждому пикселю (вокселю) изображения определенного номера (метки), который определяет принадлежность тому или иному органу. В результате процесса сегментации изображений создается трёхмерный массив меток — геометрическая модель, которая может быть подана на вход генератору тетраэдральных расчетных сеток.

Особенно актуальной является задача построения сеточных моделей для конкретных пациентов с учетом их физиологических особенностей. Ручная сегментация является затратным по времени процессом, поэтому необходима разработка методов, автоматизирующих этот процесс.

В настоящее время существует ряд методов, осуществляющих сегментацию в полуавтоматическом режиме. Некоторые из них реализованы в открытом пакете ITK-SNAP. В данной работе также рассмотрено применение метода Powerwatershed к трёхмерным изображениям.

Кроме того, предлагается алгоритм, основанный на воксельной кластеризации. Он состоит из нескольких этапов. Вначале все воксели объединяются в кластеры. Для этого существует ряд готовых алгоритмов. Основное преимущество кластеров состоит в том, что их границы совпадают с границами органов и тканей на изображении. Далее необходимо решить задачу объединения кластеров таким образом, чтобы в результате получились связные компоненты (множество вокселей одного цвета), соответствующие органам. Кластеры из одной компоненты связности должны содержать максимальное число вокселей, принадлежащих определенному органу, и не содержать вокселей других органов. В работе представлено несколько подходов, позволяющих осуществить такое объединение кластеров. Преимуществом алгоритма является относительно качественное детектирование границ, а также то, что пользователю необходимо ввести лишь небольшое количество входных параметров.

Распространение волн возбуждения в гетерогенной культуре кардиомиоцитов

О.В. Галайдыч¹, В.А. Цвеляя¹, Н.Н. Агладзе^{1,2}, К.И. Агладзе^{1,2}

¹Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

²Institute for Integrated Cell-Material Sciences, Kyoto University, Japan

Сердечные клетки способны проводить волну возбуждения, являющую собой передачу генерируемого в клетках потенциала действия (ПД). Генерация ПД осуществляется в результате функционирования потенциал-зависимых ионных каналов, обеспечивающих протекание ионных токов между средой клетки и внеклеточным пространством. Для наблюдения функциональной активности клеток используется метод оптического картирования, позволяющий визуализировать данный автоколебательный процесс. Метод конфлюэнтного монослоя не позволяет достоверно смоделировать *in vivo* орган, так как не дает полной информации о нативном межклеточном взаимодействии, что является необходимым знанием для решения проблем



регенеративной медицины. Целью данной работы является создание оптимальной модели для изучения проводимости электромеханического сигнала на различных культурах кардиомиоцитов. Для того, чтобы смоделировать такую ситуацию, используется один из наиболее современных методов тканевой инженерии — метод со-культивирования (co-culture).

Со-культивирование в данной работе проводилось по трем основным схемам:

1. Со-культура разновозрастных неонатальных крысиных кардиомиоцитов.
2. Со-культура неонатальных крысиных кардиомиоцитов и иммортализованной клеточной линии мышечных кардиомиоцитов HL-1.
3. Со-культура неонатальных крысиных кардиомиоцитов и иммортализованной клеточной линии мышечных кардиомиоцитов HL-1 с трансфицированным канальным родопсином-2.

В данной работе, посвященной совместному культивированию эукариотических клеток, была создана экспериментальная техника со-культуры по заданному двумерному трафарету (PDMS) для проверки способности двух различных типов возбудимых клеточных культур формировать единую функциональную систему. Было доказано, что полученная методика позволяет судить об электрическом и механическом объединении и сфазированном переходе волны возбуждения с клеток одной культуры на другую вследствие тесного контакта, исключая возможность их наложения. Показана взаимная интеграция между неонатальными вентрикулярными кардиомиоцитами крыс и предсердными кардиомиоцитами мыши (иммортализованной линии HL-1). Продемонстрирована со-культура кардиомиоцитов, одна из частей которой является светочувствительной: было показано формирование навязанного ритма электрического возбуждения серией световых импульсов и дальнейшее распространение волн на неонатальные кардиомиоциты. Были исследованы свойства контакта между клетками:

- зависимость прохождения/блока волны возбуждения в со-культурах в зависимости от частоты стимуляции (как электрической, так и световой);
- условия проведения волны при повышении порога возбудимости, вызванного воздействием лекарственного вещества лидокаина.

Был искусственно смоделирован блок прохождения волны возбуждения, что дает понимание о возникновении реентри в последствие пересадки сердечной ткани.

**Фотоконтроль потенциал-зависимых ионных каналов,
расположенных в мембране неонатальных
кардиомиоцитов крыс,
с помощью азобензен триметиламмоний бромид (АзоТАБ)**

Гайко О.Н., Фролова Ш.Р. и Агладзе К.И.
Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный
olga.gaiko@gmail.com

Нашей лабораторией была продемонстрирована возможность возбуждения светом монослоя сердечных клеток с помощью азобензен триметиламмоний бромид (АзоТАБ). Было высказано предположение, что АзоТАБ модулирует деятельность потенциал-зависимых ионных каналов, так как мембранный потенциал клеток, в том числе сердечных, контролируется в основном деятельностью потенциал-зависимых ионных каналов. Так, сокращение спонтанной активности и скорости распространения возбуждения указывают на то, что АзоТАБ возможно влияет на потенциал-зависимые натриевые и/или кальциевые каналы, расположенные в мембране кардиомиоцитов. В представленной работе мы исследовали влияние *транс*- и *цис*-изоформ АзоТАБа на работу потенциал-зависимых натриевых, кальциевых и калиевых каналов с использованием пэч-кламп техники и кардиомиоцитов новорожденных крыс. Было показано, что АзоТАБ действительно модулирует ионные токи: подавляет токи натрия и кальция.



При поддержке:



Министерство
экономического развития
Российской Федерации



Министерство образования
и науки Российской Федерации



Правительство
Московской области



Инновационный
территориальный кластер
Физтех XXI



+7 495 408 42 00

Первомайская д. 5, 141700
Долгопрудный,
Московская область, Россия
НП «Центр развития БФК «Северный»

www.mipt.ru
www.pharmcluster.ru