



70 лет

ИНСТИТУТУ БИОФИЗИКИ

ИНСТИТУТ
БИОФИЗИКИ:

РАЗРАБОТКИ
СОТРУДНИКОВ
ИТЭБ РАН И
ИБК РАН

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт теоретической и экспериментальной биофизики
Российской академии наук (ИТЭБ РАН)
Обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН
Федеральное государственное учреждение науки
Институт биофизики клетки
Российской академии наук (ИБК РАН)



ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ:

РАЗРАБОТКИ СОТРУДНИКОВ ИТЭБ РАН И ИБК РАН

СБОРНИК

Под редакцией:
чл.-корр. РАН *Иваницкого Г.Р.* и
к.б.н. *Масулис И.С.*

Составитель: к.б.н. *Перевязова Т.А.*

Издательство «Синхробук» (Synchrobook™)
Пушино
2023

70 лет институту биофизики. Институт биофизики: разработки сотрудников ИТЭБ РАН и ИБК РАН.

Сборник / под ред. чл.-корр. РАН Иваницкого Г.Р. и к.б.н. Масулис И.С.; составитель к.б.н. Перевязова Т.А. – Пущино : ИТЭБ РАН, ИБК РАН изд-во «Синхробук» (Synchrobook™), 2023. 46 с.

ISBN 978-5-91874-909-8

Сборник представляет результаты современных разработок ученых из ИТЭБ РАН и ИБК РАН, собранных к 70-летию юбилею Института биологической физики АН СССР, и показывает, как развиваются научные традиции, заложенные выдающимися учеными-биофизиками начала и середины 20 века, а также новые тенденции в развитии отечественной биофизики.

© ИТЭБ РАН, Пущино, 2023
© ИБК РАН, Пущино, 2023
© Синхробук (Synchrobook™), Пущино, 2023
© Мусин Е.В., дизайн-макет, 2023
© Абакумова Ю.Ю., обложка, 2023

Новые механизмы возникновения нейропатологии и способы ее коррекции

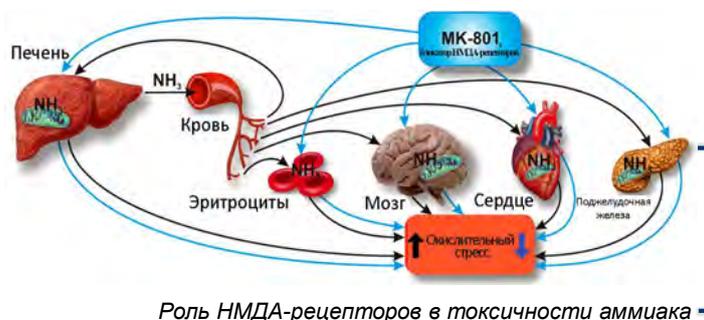
Лаборатория клеточной инженерии ИТЭБ РАН

Алилова Г.А., Тихонова Л.А., Косенко Е.А.

Было обнаружено, что на начальной стадии возникновения нейропатологии происходит:

1. Глобальное нарушение функций митохондрий печени и резкое снижение концентрации АТФ
2. Гиперактивация глутаматных НМДА-рецепторов
3. Каскад патологических реакций, приводящих к нарушению детоксикационной функции печени
4. Накопление токсина аммиака во всех тканях

Терминальное событие возникновения тотального энергетического кризиса мозга и возникновения комы связано с прекращением образования глюкозы и кетоновых тел в печени и нарушением кислород-транспортной функции эритроцитов.



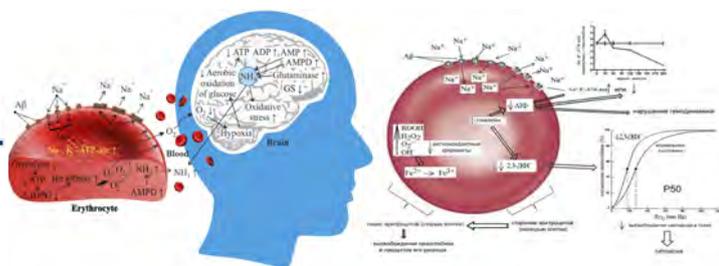
Сформулирована эритроцитарная гипотеза

возникновения нейродегенеративных заболеваний:

1. Нарушение газотранспортной функции эритроцитов
2. Гипоксия мозга
3. Ослабление энергетического обмена в мозге
4. Нарушение когнитивных функций

Для восстановления метаболических процессов в эритроцитах разработан метод инкапсуляции в эритроциты недостающих ферментов, кофакторов и субстратов.

Использование эритроцитов, нагруженных ферментами, существенно расширит арсенал средств медицинского назначения для купирования различных патологических состояний.



Разработка модели протон-индуцированного дерматита in vivo

Лаборатория изотопных исследований ИТЭБ РАН
Аникина В.А., Попова Н.Р., Сорокина С.С., Замятина Е.А., Шемяков А.Е.

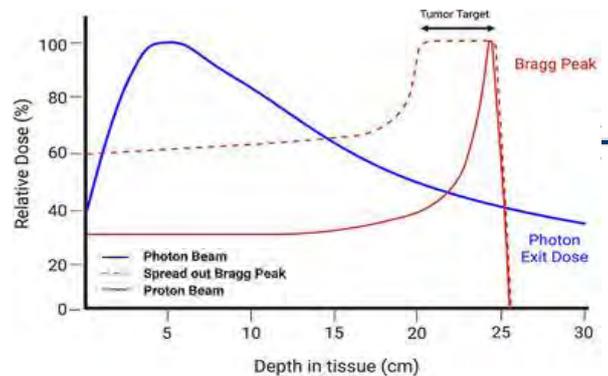
В последнее десятилетие лучевая терапия тяжелыми ионами, в том числе протонами, становится приоритетной за счет их высокой ЛПЭ, низкой проникающей способности и возможности направить максимальную энергию излучения непосредственно в мишень из расчета пика Брэгга, что минимизирует повреждение здоровых тканей и органов. Однако вне зависимости от используемого вида излучения у 95% пациентов развивается побочный эффект в виде радиационного дерматита

Актуальной проблемой современной радиационной биомедицины является поиск и разработка новых эффективных и специфических методов профилактики и лечения радиационного дерматита. Для анализа таких средств необходимо разработать и получить экспериментальную модель радиационного дерматита in vivo. В связи с чем целью данного исследования является разработка модели протон-индуцированного дерматита in vivo на мышах.

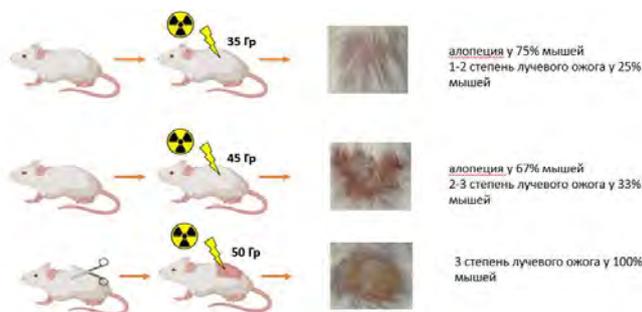


Рентгеновское и протонное излучение - это виды внешней лучевой терапии рака. Однако свойства каждого из них сильно различаются и приводят к различным уровням облучения

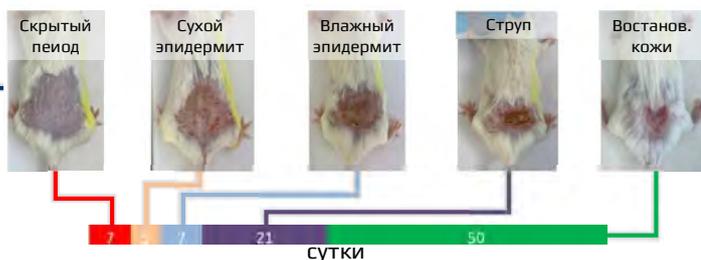
Сравнение стандартного рентгеновского излучения и протонной терапии



Глубинная доза для фотонных и протонных пучков



Варианты экспериментов для получения воспроизводимой модели протон-индуцированного дерматита на мышах in vivo



Длительность периодов протон-индуцированного дерматита

Для получения модели радиационного дерматита была проведена серия экспериментов, на основании которых были подобраны оптимальные условия. Расчётная доза на поверхности животного составила 50 Гр. Площадь равномерного (95%) покрытия заданной дозой – 15 x 15 мм. Энергия пучка на выходе из ускорителя - 88,5 МэВ. Облучение импульсное, с циклом 2 секунды.

Методика позволяет получить радиационно-индуцированные повреждения кожи и определить длительность периодов радиационного дерматита у мышей и может быть использована для оценки эффективности терапевтических средств, предназначенных для профилактики и лечения радиационно-индуцированного повреждения кожи.

Антимикробный потенциал синергетического действия холодной газовой плазмы и наночастиц соединений церия и вольфрама



Лаборатория исследований генома ИТЭБ РАН

Афанасьева В.А., Ермаков А.М.

Стерилизация с помощью низкотемпературной газовой плазмы – активно внедряющийся метод для уничтожения микроорганизмов, в том числе с множественной устойчивостью к антибиотикам.

На базе Больницы Пущинского научного центра РАН совместно с сотрудниками ИТЭБ РАН (г. Пущино) и МОУ «ИИФ» (г. Серпухов) разрабатывается и изготавливается опытный образец портативного генератора низкотемпературной газовой плазмы для медицинского применения.

Прибор оптимизирован для применения в практическом здравоохранении и биотехнологии, обеспечивает реализацию различных режимов плазменного облучения от стерилизации приборов, оборудования и инструментов, дезинфекции инфицированных разнообразной полирезистентной микрофлорой поврежденных тканей до ускорения процессов регенерации и заживления ран и язв.

В оригинальном плазматгенераторе использован принцип генерации разряда с помощью высокочастотных токов, что обеспечивает возможность значительно снизить габариты прибора и обеспечить импортозамещение дорогостоящего оборудования.



Прибор



Зоны отсутствия роста микроорганизмов

Обработка холодной газовой плазмой совместно с добавлением наночастиц показало увеличение антимикробного действия плазмы. Выявленное синергетическое действие обуславливает высокую интенсивность разрушения бактерий (модельный объект – кишечная палочка E.coli).

Плазменная технология лечения может быть использована в стационарных, полевых и домашних условия. Низкотемпературная газовая плазма позволяет уничтожать все известные микроорганизмы, в том числе устойчивые к антибиотикам, а также вирусы и устойчивые микробные биопленки.

Время экспозиции
3 мин. 6 мин.

CeF ₃ , 10 ⁻⁴ М	28,12%	17,05%
CeO ₂ , 10 ⁻⁴ М	24,35%	24,73%
WO ₃ , 0,5 мг/мл	22,2%	37,04%

Разница с облученным контролем без наночастиц, %

Влияние добавления наночастиц на увеличение площади отсутствия роста микроорганизмов

Защитное действие КВЧ-излучения от ионизирующей радиации и повреждающих концентраций химических агентов

Лаборатория биологических эффектов неионизирующих излучений

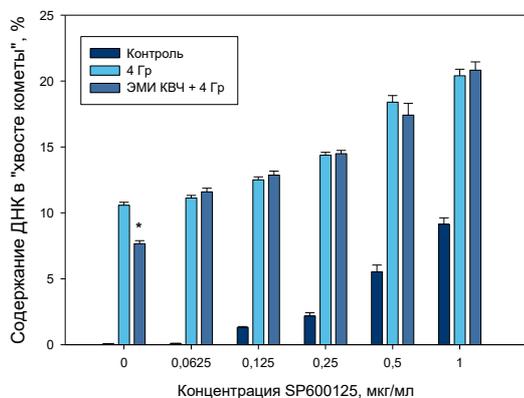
Гапеев А.Б., Лукьянова Н.А., Пашовкин Т.Н.

Исследовано радиопротекторное и защитное действие низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высоких частот (ЭМИ КВЧ) от ионизирующей радиации и повреждающих концентраций химических агентов на клеточном уровне с использованием метода молекулярной генотоксикологии "комета-теста".

Показано, что низкоинтенсивное ЭМИ КВЧ с определенными физическими параметрами (несущая частота 42.2 ГГц, интенсивность 100 мкВт/см², экспозиция 20 мин, частота импульсной модуляции 1 Гц) снижало уровень повреждений ДНК в лейкоцитах крови мыши на 20-45% в зависимости от типа генотоксического

Условия воздействия	Процентное содержание ДНК в "хвосте кометы", %	Фактор уменьшения дозы
ММС 2.5 мМ	2.98 ± 0.10	1.00
ЭМИ КВЧ + ММС 2.5 мМ	2.30 ± 0.10*	1.30
РИ 4 Гр	9.93 ± 0.27	1.00
ЭМИ КВЧ + РИ 4 Гр	7.42 ± 0.34*	1.34
H ₂ O ₂ 20 мкМ	5.04 ± 0.21	1.00
ЭМИ КВЧ + H ₂ O ₂ 20 мкМ	2.37 ± 0.30*	2.13

Уровень повреждений ДНК в лейкоцитах крови мыши при действии ЭМИ КВЧ, РИ, пероксида водорода и алкилирующего агента



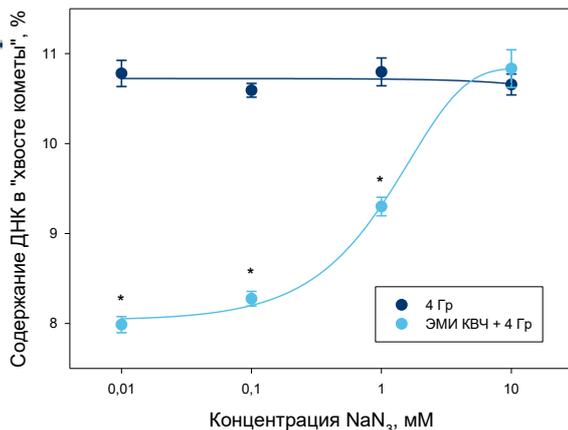
Уровень повреждений ДНК в лейкоцитах крови мыши в контроле, при действии РИ (4 Гр) и комбинированном действии ЭМИ КВЧ и РИ (4 Гр) от ингибитора

Проведен поиск внутриклеточных сигнальных систем, участвующих в реализации радиозащитного действия ЭМИ КВЧ.

Действие ингибитора SAPK/JNK протеинкиназы SP600125, начиная с концентрации 0.0625 мкг/мл, полностью снимало радиозащитный эффект ЭМИ КВЧ. Большие концентрации SP600125 (0.125-1 мкг/мл) также приводили к снятию радиозащитного эффекта ЭМИ КВЧ, но сами по себе оказывали генотоксическое действие.

Оценка роли систем репарации ДНК показала, что их блокирование азидом натрия в концентрации 10 мМ приводит к полному снятию радиозащитного эффекта ЭМИ КВЧ.

Полученные результаты вносят определенный вклад в понимание механизмов биологического действия низкоинтенсивных ЭМИ и позволяют развивать научно-обоснованную стратегию электромагнитной безопасности.



Уровень повреждений ДНК в лейкоцитах крови мыши при действии РИ (4 Гр) и комбинированном действии ЭМИ КВЧ и РИ (4 Гр) от концентрации азиды натрия

Роль Rbm20 в регуляции сплайсинга титина в миокарде суслика



Лаборатория структуры и функций мышечных белков ИТЭБ РАН
Лаборатория механизмов природного и искусственного гипобиоза ИБК РАН

Грбарская М.А., С.С. Попова, Г.З. Михайлова, Захарова Н.М., Вихлянцев И.М.

Изменения генной экспрессии в поперечно-полосатых мышцах млекопитающих наблюдаются как при адапционных (например, при зимней спячке), так и при патологических процессах. Объект данной работы **длиннохвостый суслик**.

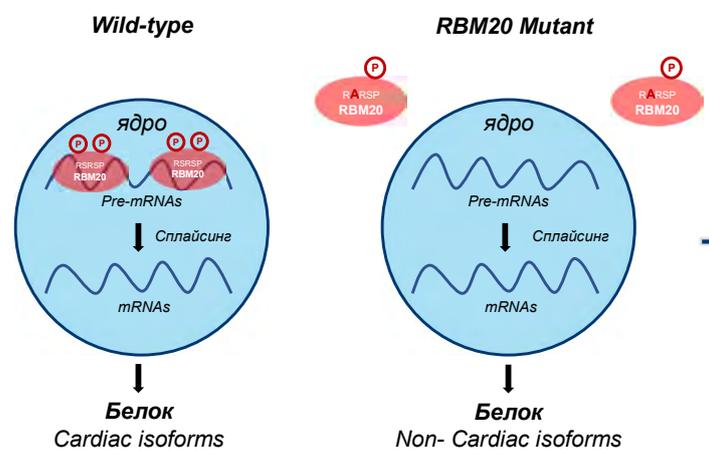
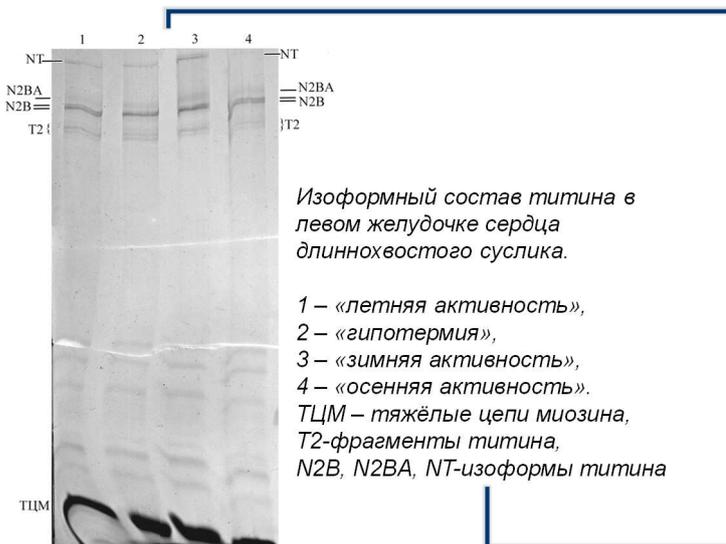
Исследована роль РНК-связывающего белка Rbm20 в регуляции альтернативного сплайсинга титина в миокарде облигатного гибернанта – длиннохвостого суслика в четырёх сезонных точках.

Обнаруженное двукратное уменьшение содержания Rbm20 в ядре в период спячки и зимней активности (дорожки 3 и 4), что, согласно другим данным, должно приводить к синтезу более длинных (не специфичных для сердечной мышцы) изоформ титина.

Это нашло подтверждение в наших исследованиях. В частности, в миокарде длиннохвостого суслика в период спячки и зимней активности обнаружено двукратное увеличение доли более длинной N2BA-изоформы титина, а также появление более длинных изовариантов этой изоформы.



Сезонные изменения содержания Rbm20 в ядерной фракции миокарда левого желудочка сердца длиннохвостого суслика.



Трансляция изоформ белка титина кардиомиоцитов со специализированными функциями (слева), без специализированных функций (справа) в зависимости от локализации Rbm20 (адапт. из Takeshi Watanabe et al., 2018)

Результаты расширяют представления о молекулярных механизмах развития адапционных и патологических изменений в мышцах и открывают перспективы новых подходов к коррекции миопатий.

Сенолитические стратегии лечения заболеваний, ассоциированных с возрастом



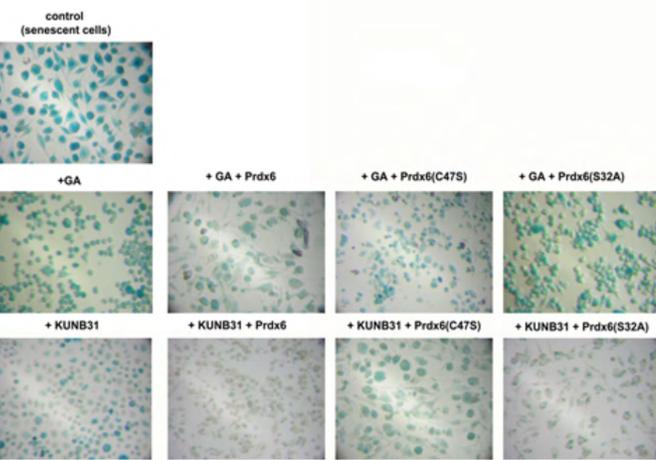
Лаборатория механизмов рецепции ИБК РАН

Глушкова О.В., Лунин С.М., Хренов М.О., Парфенюк С.Б., Новоселова Т.В., Мубаракшина Э.К., Кузеква А.А., Новоселова Е.Г.

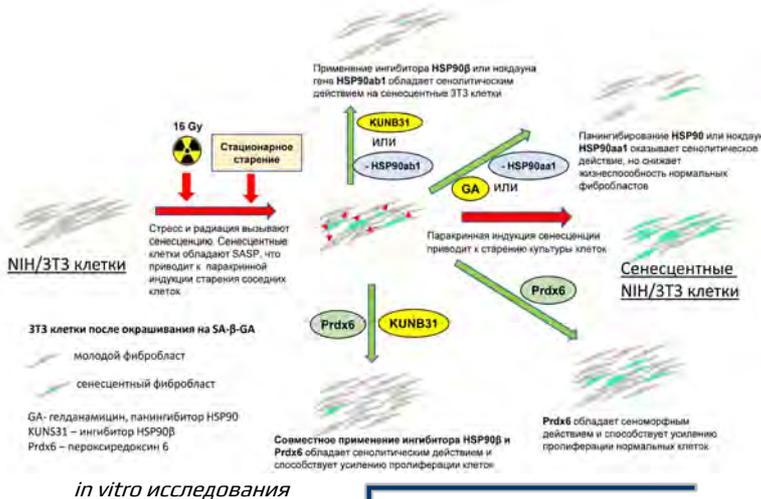
Старение – социально значимый процесс, связанный с накоплением сенесцентных клеток. Сенесцентные клетки неспособны к делению, устойчивы к апоптозу и способствуют паракринному старению соседних клеток, что приводит к прогрессированию заболеваний, ассоциированных с возрастом

Стратегиями современной цитогеронтологии являются

1. Поиск новых **сеноморфов** (веществ, действие которых направлено против токсичных продуктов обмена состарившихся клеток)
2. Поиск новых **сенолитиков**, способных к элиминации стареющих клеток из организма



Влияние ингибиторов HSP90 гелданамицина (GA, пан-ингибитор HSP90), KUN31 (селективный ингибитор HSP90β), пероксиредоксина б дикого тип (PRDX6) и его мутантов с редуцированной фосфолипазой (PRDX6(S3A)) или пероксидазной активностью (PRDX6(C47S)) на активацию ассоциированной со старением бета-галактозидазы (SA-β-Gal) (синее окрашивание) в сенесцентных фибробластах 3Т3



МОДЕЛИ ЗАБОЛЕВАНИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ВОЗРАСТОМ



Коллектив авторов успешно изучает проблемы старения как на модели *in vitro*, так и на модели *in vivo*.

Исследования показали, что совместное применение ингибитора HSP90β и Prdx6 :

- Обладает высоким избирательным сенолитическим действием и способствует усилению пролиферации нормальных клеток.
- Снижает уровень повреждения ДНК (оценено по уровню рh-H2AX).
- Нормализует антиоксидантный статус клеток (оценено по уровню экспрессии внутриклеточных антиоксидантов – SOD, Prdxs и др).
- Восстанавливает иммунный статус стареющих клеток, что было оценено по уровню продукции атипических молекул ГКГ (H2-Qa1).
- Нормализует продукцию белков теплового шока HSP90 и HSP70
- Снижает выраженность SASP (оценено по уровню активации SA-β-Ga, провоспалительных цитокинов)
- Уменьшает активацию p53-p21 и p13K сигнальных путей.
- Обладает высоким потенциалом для лечения возраст-ассоциированных заболеваний, увеличивая продолжительность жизни мышей с хроническим воспалением, сахарным диабетом и легочным фиброзом.

Таким образом применение комбинации Prdx6 с ингибиторами HSP90, представляется перспективным подходом для коррекции патологий, сопровождающихся окислительным стрессом, в том числе, и при накоплении сенесцентных клеток при старении и развитии возраст-ассоциированных заболеваний.

Оценка патологических нарушений взаимосвязей между регуляторными процессами в сердечно-сосудистой системе на организменном и молекулярно-клеточном уровнях

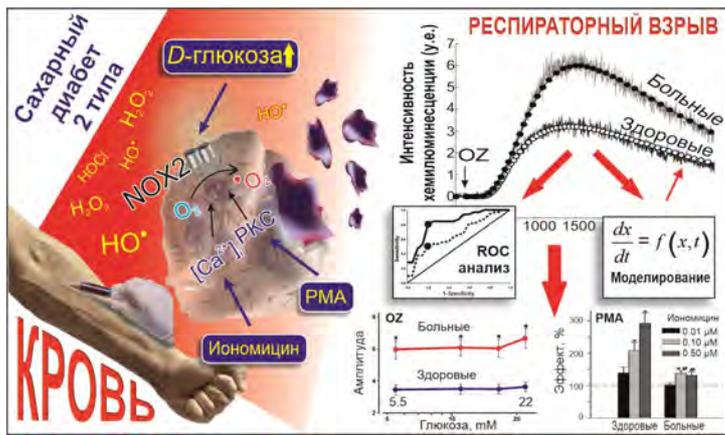
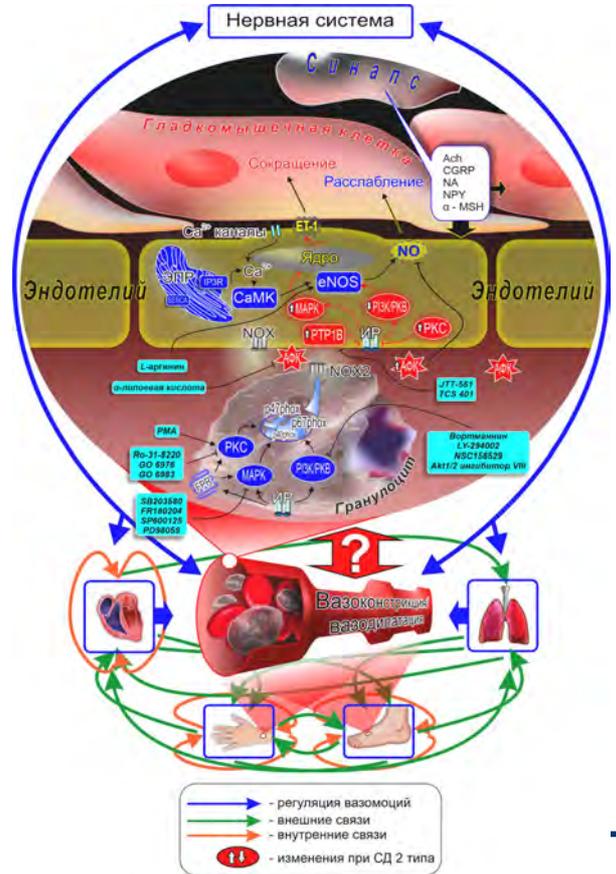
Лаборатория клеточной нейробиологии ИБК РАН

Гриневич А.А., Дюкина А.Р., Сафронова В.Г., Серов Д.А., Танканаг А.В., Тихонова И.В., Чемерис Н.К.



Разработан метод оценки взаимосвязей между системами регуляции кровотока в сердечно-сосудистой системе человека и животных с использованием спектрального и корреляционного анализа и фазовой вейвлет-когерентности, который может быть использован в ранней диагностике дисфункции микрососудов.

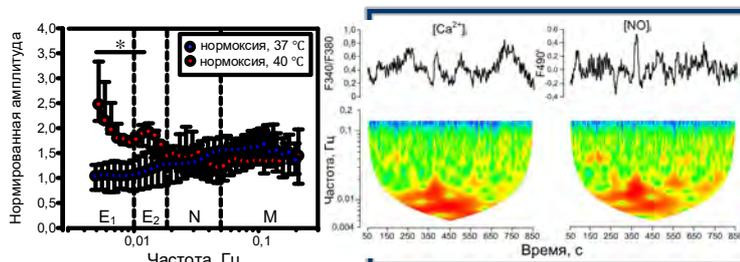
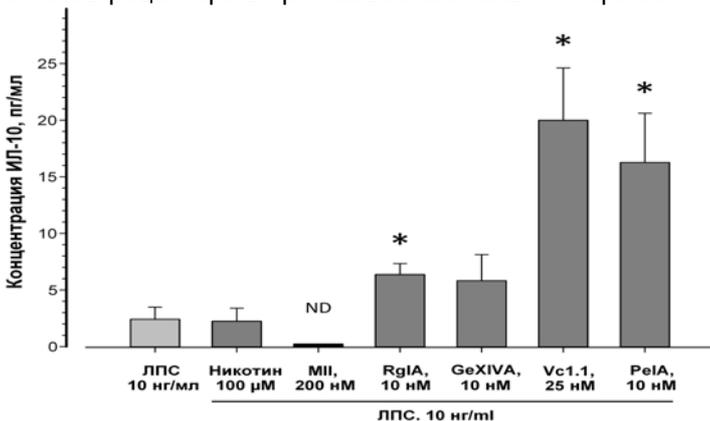
Впервые показано, что изменения амплитудно-частотных характеристик кожного кровотока при патологиях сопровождаются изменениями функционального состояния гранулоцитов крови, при этом предикторами нарушений являются параметры активации НАДФН-оксидазы.



Методом математического моделирования показана принципиальная возможность формирования низкочастотных колебаний микроциркуляторного кровотока в коже человека при низкоинтенсивных стохастических флуктуациях тонуса левого желудочка сердца.

Впервые обнаружены низкочастотные колебания кожной микроциркуляции у мышей, а также колебания $[Ca^{2+}]_i$ и $[NO]_i$ в эндотелиоцитах микрососудов мыши в частотном диапазоне эндотелиального ритма, которые могут являться триггерами осцилляций кожной микрогемодинамики низкой частоты.

Впервые выявлена экспрессия $\alpha 9\alpha 10$ никотинового рецептора ацетилхолина и определена его роль в регуляции активности гранулоцитов, включая адгезию, генерацию АФК, Ca^{2+} -гомеостаз и продукцию цитокина ИЛ-10 в норме и при воспалении, что указывает на возможность использования антагонистов рецептора в противовоспалительной терапии.



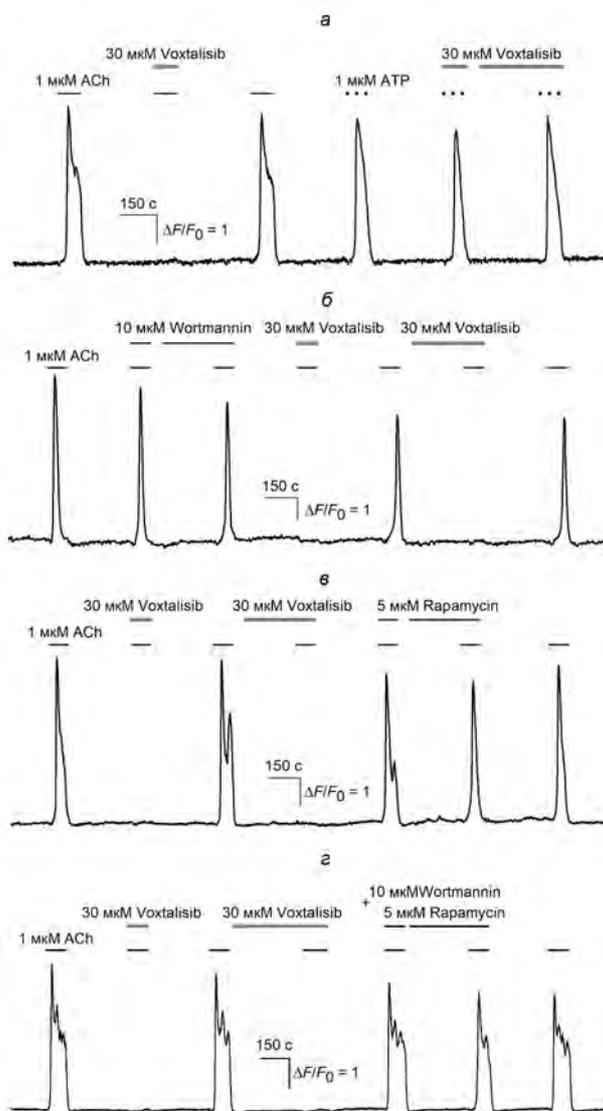
Ингибитор PI3K и mTOR Voxtalisib нарушает сопряжение мускаринового рецептора M3 с мобилизацией Ca^{2+}

Лаборатория молекулярной физиологии клетки
Дымова Е.А., Лямин О.О., Котова П.Д., Колесников С.С.

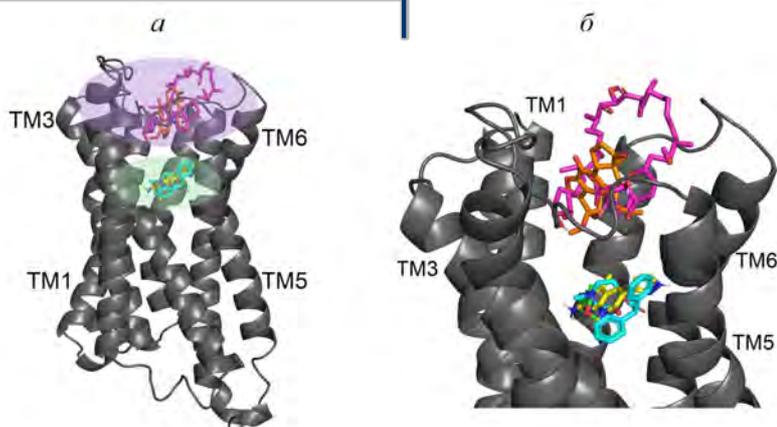
Сигнальный путь PI3K/Akt/mTOR патологически активирован в клетках опухолей, а ингибиторы элементов этого пути используются в качестве лекарственных средств. Ингибитор PI3K и mTOR Voxtalisib находится на стадии клинических испытаний, в ходе которых установлено, что он вызывает многочисленные и разнообразные побочные эффекты.

Стимуляция клеток ацетилхолином вызывала в клетках HEK-293 Ca^{2+} -ответы, которые блокировались в присутствии Voxtalisib. Однако ингибиторы PI3K и mTOR другой химической природы Wortmannin и Rapamycin не влияли на способность клеток отвечать на ацетилхолин. То есть Voxtalisib блокировал Ca^{2+} -ответы на ацетилхолин не за счет ингибирования PI3K и/или mTOR. Обращал на себя внимание тот факт, что Voxtalisib блокировал ответы при его одновременной аппликации с агонистом, что указывало на возможность внеклеточного действия этого соединения.

С помощью методов вычислительной биофизики нами было проведено моделирование взаимодействия M3-рецептора с Voxtalisib и другими соединениями, которые были использованы в физиологических экспериментах. Вычислительные эксперименты показали, что Voxtalisib способен связываться с ортостерическим сайтом M3-рецептора и тем самым препятствовать его активации агонистом.



Влияние ингибиторов PI3K и mTOR на Ca^{2+} -ответы клеток HEK-293 на ацетилхолин



Комплексы M3-рецептора с исследовавшимися соединениями. Voxtalisib изображен желтым цветом, 4-DAMP – бирюзовым, Rapamycin – фиолетовым, Wortmannin – оранжевым, ацетилхолин – зеленым.

Весьма вероятно, что побочные эффекты, возникающие у пациентов при применении Voxtalisib, могут быть обусловлены ингибированием холинергической сигнальной системы клеток, экспрессирующих M3-рецептор.

Изучение влияния микробиоты кишечника на развитие эпилепсии

Лаборатория исследований генома, ИТЭБ РАН

Жданова Е.А., Ермаков А.М.

Эпилепсия - это хроническое неврологическое расстройство, по данным ВОЗ этим заболеванием страдают около 50 миллионов человек, что составляет до 1% общего населения планеты. Только в 35% случаев заболевание связано с генетическими нарушениями, в то время как на остальные случаи влияют многофакторные риски и воздействия окружающей среды, многие из которых не изучены до конца. Один из таких факторов является взаимодействие микроорганизмов ЖКТ и человека.

Микробиота кишечника, все чаще рассматривается в качестве важного медиатора влияния факторов риска окружающей среды на развитие заболеваний у хозяина.

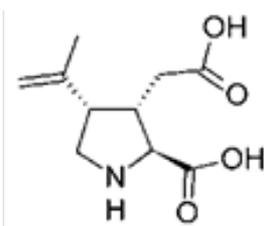
Цель нашего исследования - определение корреляция видового состава микробиомного ценоза с чувствительностью животных к развитию эпилепсии модулируемой каиновой кислотой.



Микробиота*



Нанопоровый секвенатор



Каиновая кислота



1 Пример таксономического определения результатов

Для комплексного анализа исследуется микробиом просвета кишечника в разных отделах и кала. Исследование проводится с использованием нанопорового секвенатора.

Нами были разработаны собственные подходы к амплификации (праймеры, покрывающие большинство микробных таксонов) и методы биоинформатического анализа полученных данных секвенирования, позволяющие до вида и штамма определить состав микробиоты исследуемого образца.

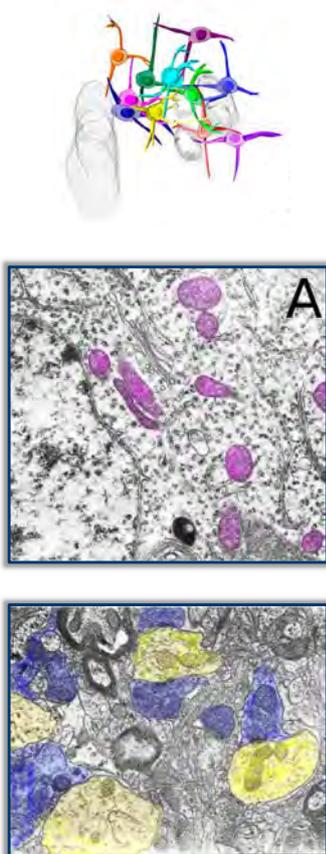
Ультраструктурное изучение и 3D моделирование клеточных структур мозга

Лаборатория экспериментальной нейробиологии ИТЭБ РАН
Жуйкова Н.С. Михеева И.Б., Михайлова Г.Э Штанчаев Р.Ш., Павлик Л.Л.

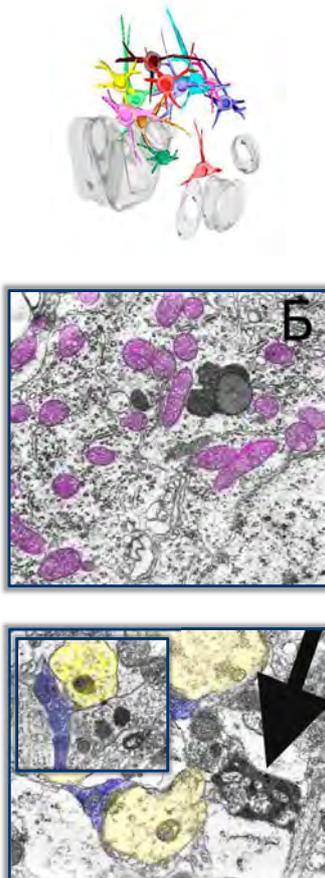
Благодаря разработанным методам компьютерной реконструкции изучаемых клеток и исследования на электронном микроскопе, стало возможно анализировать морфологию внутриклеточных структур и нейропиля.

Так, например, за последние годы были изучены пластические и структурные изменения блокового ядра среднего мозга мыши после 30-и дневного космического полета и последующей 7-дневной реадaptации к земной гравитации.

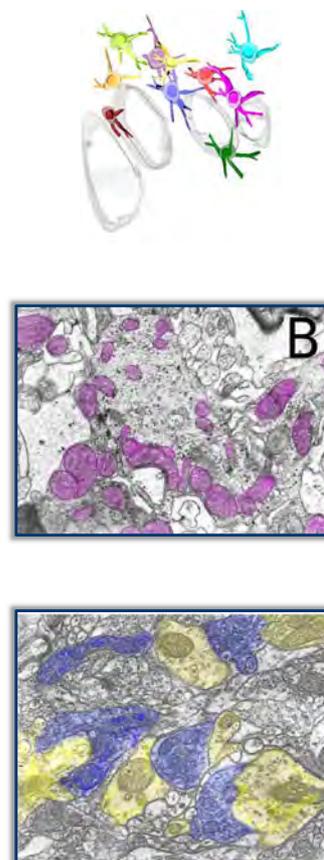
Контроль



Полет



Рееадаптация к земной гравитации



Митохондрии - розовый цвет
Дендриты - желтый цвет
Аксоны - синий цвет

Стрелкой отмечен дегенерированный по «темному типу» аксо-дендритный синапс

Увеличение 14000

Благодаря проведенным исследованиям были обнаружены в условиях микрогравитации адаптивные изменения как в самих нейронах блокового ядра, в синапсах, так и в количестве и направлении дендритов.

В перспективе данные методы работы будут использованы для изучения влияния гипергравитации (противоположно микрогравитации) на вестибулярные ядра мозга животных.

Активация резерва естественной защиты организма

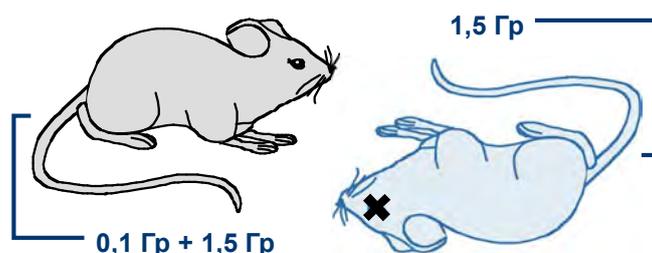


Лаборатория клеточной инженерии ИТЭБ РАН

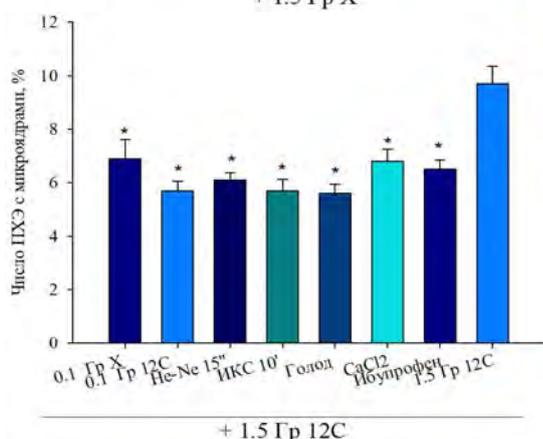
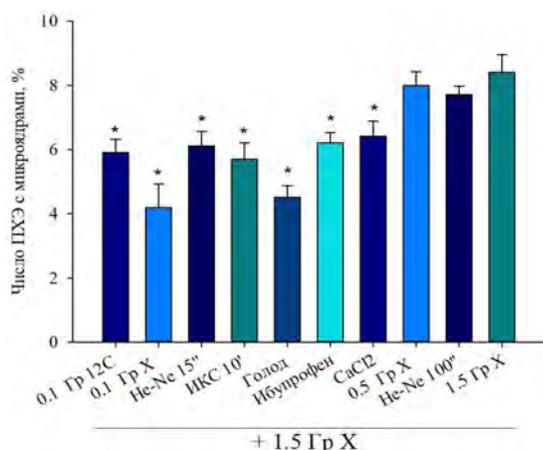
Заичкина С.И., Дюкина А.Р., Сорокина С.С., Шемяков А.Е., Розанова О.М.,
Смирнова Е.Н., Ларюшкин Д.П., Поцелуева М.М.

Исследовано генотоксическое действие малых доз физических и химических факторов, для поиска возможности активации естественной защиты организма.

Наиболее перспективны для выявления и изучения резерва устойчивости является использование технологии индукции радиационного адаптивного ответа, поскольку радиационные повреждения, вызванные малыми воздействиями, можно обнаружить только с помощью дополнительного выявляющего воздействия большими дозами.



предварительное облучение в малых дозах приводит к снижению воздействия больших доз



Количество полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ) с микродрамми в костном мозге мышей, облученных инфракрас. (ИКС), He-Ne лазерным, углеродным (С), рентген. (X) излучениями и последующим облучением в дозе 1.5 Гр углерода или рентген.излучения

Физические агенты

- Голод
- Рентгеновские лучи
- Ускоренные ионы углерода
- Диодная инфракрасная матрица
- He-Ne лазер

Химические агенты

- Иммуномодулятор CaCl2
- Ибупрофен

Предобработка животных изученными агентами приводила к снижению радиочувствительности при облучении рентгеновскими лучами или ускоренными ионами углерода в дозе 1.5 Гр. Однако предварительное облучение животных рентгеном и He-Ne лазером в более высоких дозах не приводило к снижению количества повреждений.

Защитный эффект зависит от величины и качества дозы активирующего воздействия и коррелирует с образованием АФК. Это указывает на возможность активации резерва естественной защиты организма.

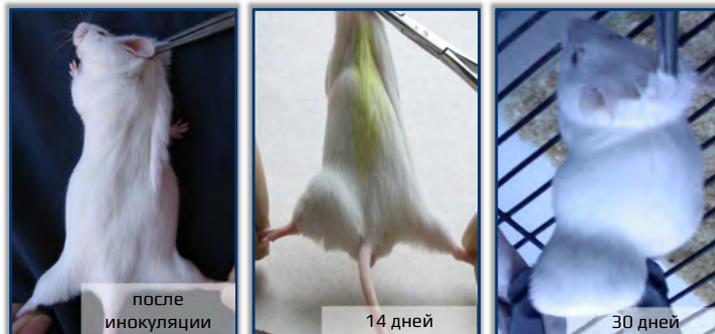
Представленный подход может служить дополнительным чувствительным тестом для выявления повреждений от различных экологических факторов.

Влияние облучаемого объема карциномы на рост опухоли и отдаленные эффекты у мышей

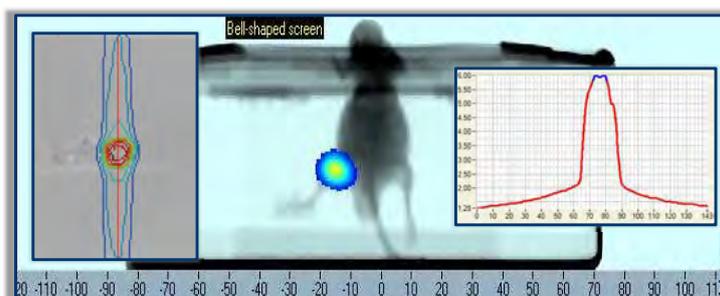
Лаборатория клеточной инженерии ИТЭБ РАН
Заичкина С.И., Розанова О.М., Смирнова Е.Н., Сорокина С.С., Шемяков А.Е.

Исучен рост солидной формы асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ) и отдаленные эффекты (длительность ремиссии, частота рецидивов и средняя продолжительность жизни) у мышей, подвергшихся облучению тонким сканирующим пучком протонов в суммарной дозе 60 Гр в зависимости от объема облучаемой ткани.

Мышей облучали двумя фракциями по 30 Гр на Комплексе протонной терапии «Прометеус». Объем облучаемой ткани определяли по томограмме в водном фантоме. С помощью планирующей системы Комплекса задавали определяемый объем опухоли - **GTV**, равный фактическому среднему размеру опухоли 0,47 см³, а другой группе животных область облучения ткани была увеличена до планируемого объема мишени - **PTV**, равного 1,5 см³.



8-9-недельные самцы линии SHK. Салидная форма АКЭ, быстрорастущая, радиорезистентная, неместазирующая опухоль (100% гибели животных в течение месяца после инокуляции 1–2 млн клеток)

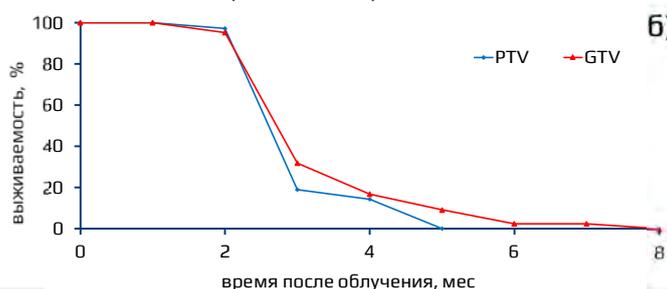
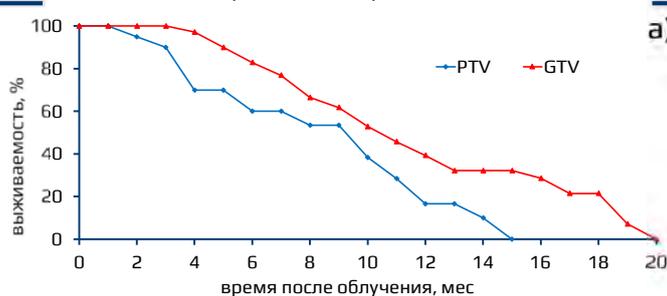
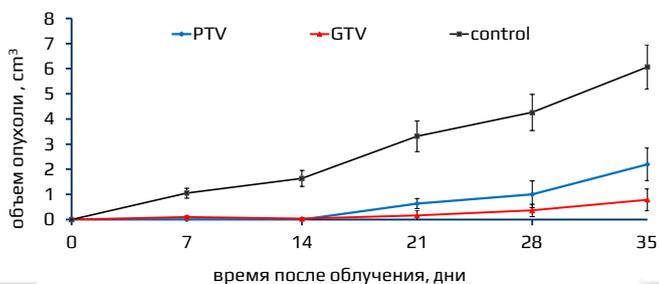


Распределение дозы в программе планирования при облучении АКЭ у мышей двумя встречными пучками

В группе **GTV** (мыши с меньшим объемом облучения) выживаемость была выше: максимальная продолжительность жизни у мышей без рецидивов была больше на 5 мес (а), а у мышей с рецидивом — на 3 мес (б), чем в группе при облучении **PTV**.

СПЖ мышей с рецидивами в группе облучения **GTV** составила 96 сут, а в группе **PTV** – 77 сут, или 58 и 31 сут после возникновения рецидивной опухоли соответственно. **СПЖ** мышей без рецидивов также была заметно больше при облучении **GTV**-опухоли: 283 сут по сравнению с 228 сут после облучения **PTV**.

Показано, что при данной локализации и размерах солидной **АКЭ** нет необходимости в увеличении объема облучаемой ткани для повышения эффективности протонной терапии.



Разработка технологий спасения при угрозе терминальных состояний

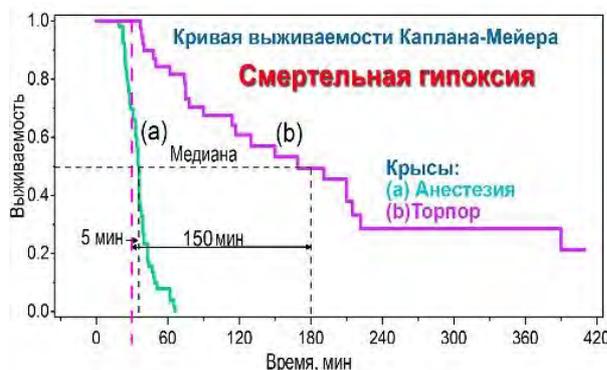


Лаборатория криоконсервации и гипобиоза ИБК&ФПИ
 Захарова Н.М., Тараховский Ю.С., Фадеева И.С., Комелина Н.П.,
 Хренов М.О., Глушкова О.В., Семенов В.С., Кукушкин Н.И., Прохоров Д.А.,
 Кутышенко В.П., Ковтун А.Л.

Разработана фармакологическая композиция для создания у животных суточного полностью обратимого состояния торпора и гипотермии при однократном введении

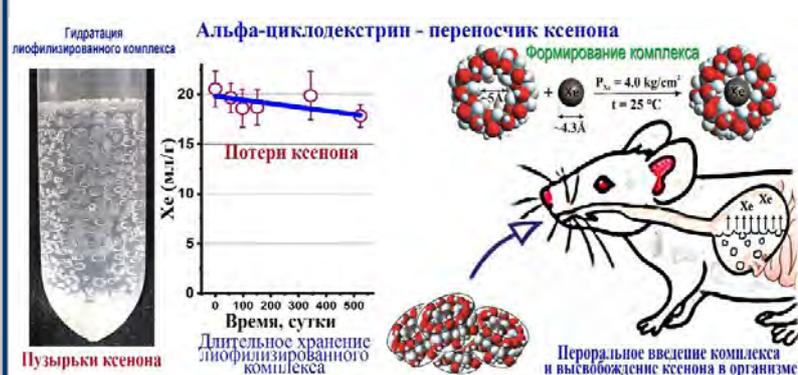
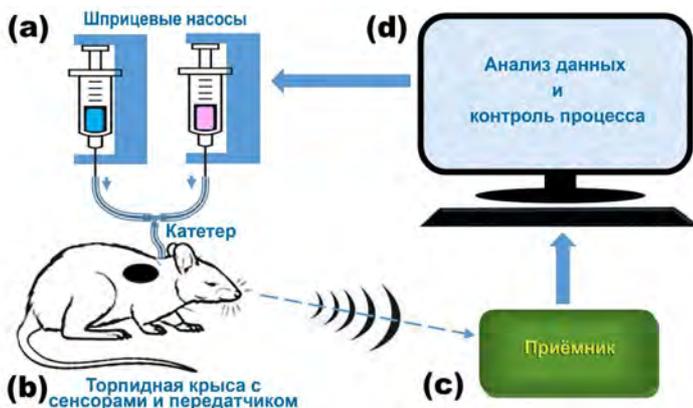
Композиция содержит смесь фармакологических препаратов и ксенон, растворенные в шариках липидной эмульсии. *Life Sciences* 219 (2019) 190–198

Показано, что в состоянии фармакологического торпора, время выживания крыс в условиях смертельной гипоксии (содержание кислорода 3,5%) увеличивается в 30 раз. *J. Therm. Biol.* 98(2021)102906



Создана оригинальная установка для автоматического поддержания фармакологического торпора с системой обратной связи, позволяющая поддерживать состояние гипотермии у крыс в течение 7 дней.

После выхода из торпора, температура тела и поведенческие реакции животных возвращаются к норме. *Life Sci. Space Res.* 28 (2021) 18–21



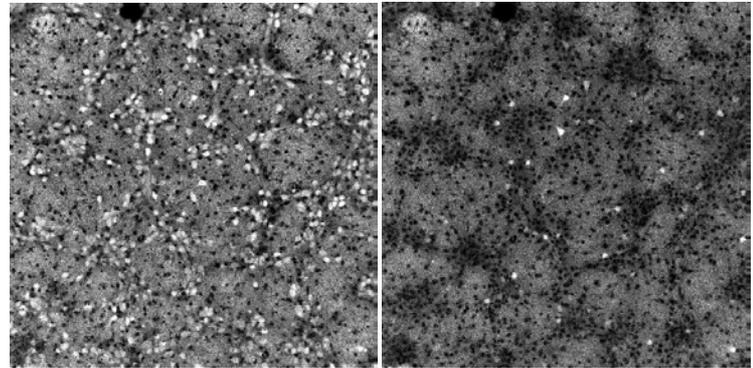
Создан не имеющий аналогов твердый переносчик ксенона на основе лиофилизированного комплекса ксенон-альфа-циклодекстрин. *J. Pharm. Sci.* xx (2022)

Выявление и свойства ГАМКергических нейронов, экспрессирующих кальций-проницаемые каинатные рецепторы

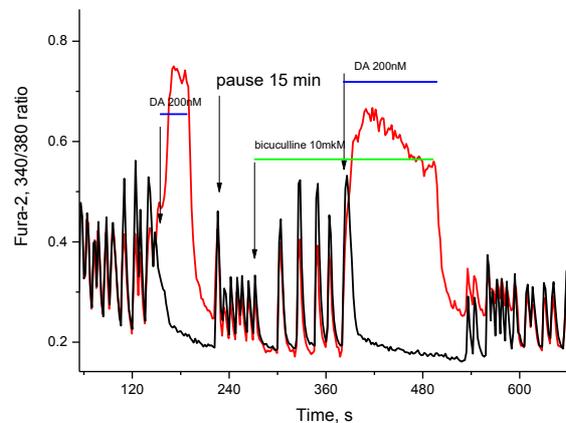
Лаборатория внутриклеточной сигнализации ИБК РАН
Зинченко В.П., Гайдин С.Г., Теплов И.Ю., Косенков А.М., Долгачева Л.П.

В рамках проблемы контроля гипервозбуждения нейронов мозга различными подтипами ГАМКергических нейронов открыт механизм подавления гипервозбуждения новым подтипом (популяцией) ГАМКергических нейронов гиппокампа, экспрессирующих кальций-проницаемые каинатные рецепторы (CP-KAR) содержащие субъединицу GluR5/GluK1.

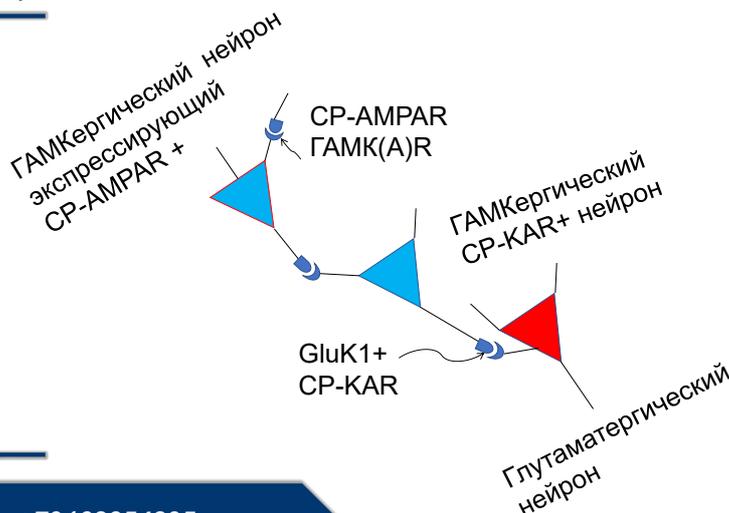
Разработаны методы прижизненной визуализации данных нейронов. Показано, что функция нейронов состоит в опережающей секреции ГАМК при развитии гипервозбуждения. Реализация данной функции обусловлена ослаблением/ ГАМК(A)-рецептор-зависимого торможения, повышенной возбудимостью нейронов, отсутствием десенситизации CP-KAR их локализацией в пресинаптической мембране. Селективные агонисты CP-KAR обладают нейропротекторным свойством при гипервозбуждении. Селективная гибель данной популяции тормозных нейронов обусловлена высокой чувствительностью к деполяризации и недостаточностью PI3-киназного сигнального пути, активаторы которого предохраняли нейроны от гибели. Данная популяция нейронов участвует в процессе рассинхронизации активности нейронов при возникновении режима гипервозбуждения



Светлые пятна - все возбужденные нейроны. Темные пятна – невозбужденные астроциты. Справа – селективно возбужденные ГАМКергические нейроны, экспрессирующие кальций-проницаемые каинатные рецепторы



Агонисты кальций-проницаемых каинатных рецепторов подавляют эпилептическую активность нейронов



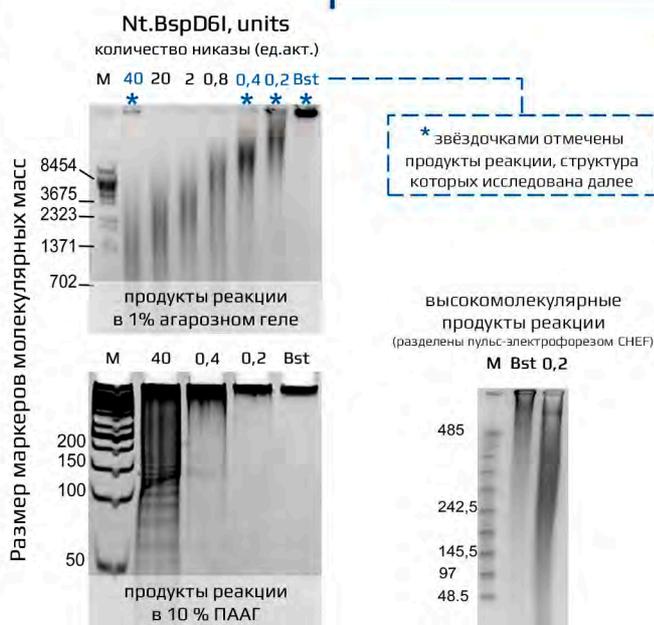
CP-KAR экспрессирующие нейроны контролируются ГАМКергическими нейронами, экспрессирующими кальций-проницаемые AMPA рецепторы

Синтез ДНК *ab initio*, стимулируемый никующими эндонуклеазами

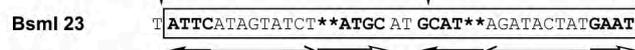
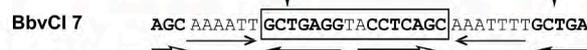
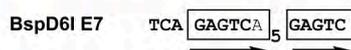
Лаборатория клеточной инженерии ИТЭБ РАН
Лаборатория биофизики возбудимых сред ИТЭБ РАН
Санкт-Петербургский государственный университет *
*Зырина Н.В., Антипова В.А., Ревезук З.В.**

Синтез ДНК *ab initio* – необычный синтез термофильными ДНК-полимеразами прокариот д.ц. ДНК только из свободных дНТФ без добавления любой ДНК/РНК

Нами обнаружено, что в присутствии никаз Nt.BspD6I, Nt.AlwI, Nb.BbvCI, и Nb.BsmI ДНК-полимераза Bst синтезировала за 1,5 часа более 10 мкг ДНК от нескольких сот до тысяч п.о. Последовательности этой ДНК состояли из коротких повторов 1–2 сайтов узнавания никаз и небольшой случайной АТ-богатой последовательности. Повторы имели палиндромную (Nt.AlwI, Nb.BbvCI, и Nb.BsmI) или непалиндромную (Nt.BspD6I) структуру. Линейные д.ц. молекулы ДНК содержали разветвленные участки, одноцепочечные и трехцепочечные сегменты молекулы высокомолекулярной ДНК с большим количеством разветвленных участков формировали сетчатую структуру.



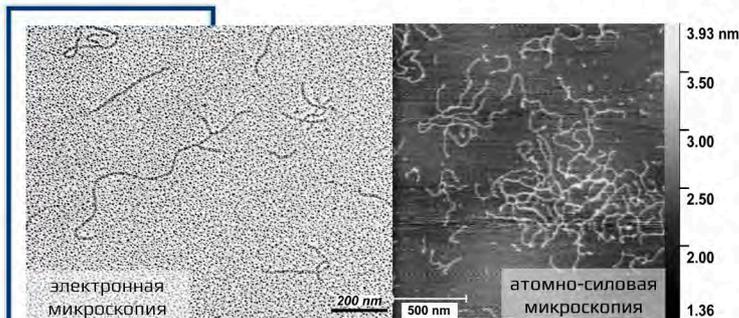
синтез ДНК *ab initio* полимеразой Bst в присутствии никазы Nt.BspD6I, время реакции 1 час



последовательности синтезированной *ab initio* ДНК
рамки – палиндромы с их сайтами (полужирный шрифт)
заполненные стрелки – цепи сайтов узнавания никаз
тонкие стрелки – случайные последовательности
черный треугольник – сайт расщепления никазой на дц ДНК

Синтез ДНК *ab initio* мы обсуждаем как одну из причин появления неспецифических продуктов в методах изотермической амплификации ДНК, актуальных в клинических исследованиях. Проблема неспецифических продуктов ограничивает использование этих методов вместо ПЦР; мы предлагаем применение SSB белков в качестве ингибиторов синтеза *ab initio*.

Недорогая и эффективная реакция синтеза ДНК *ab initio* перспективна для разработки биоматериалов на основе ДНК, а также для применения в качестве тест-системы для прямой детекции синтеза ДНК.



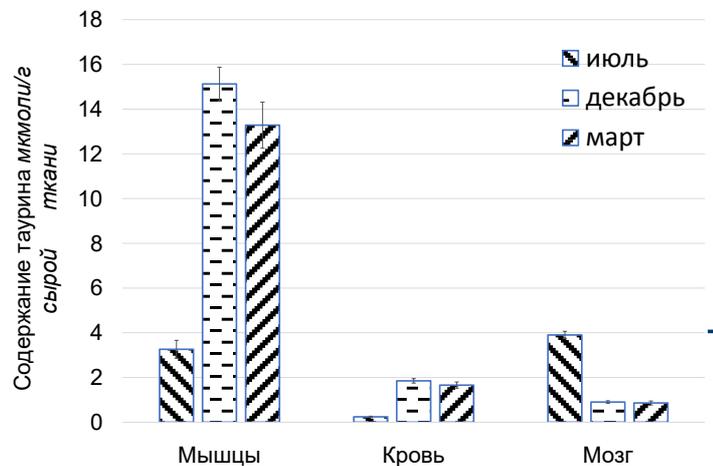
структура синтезированной *ab initio* ДНК

Адаптация к низким температурам и эволюция

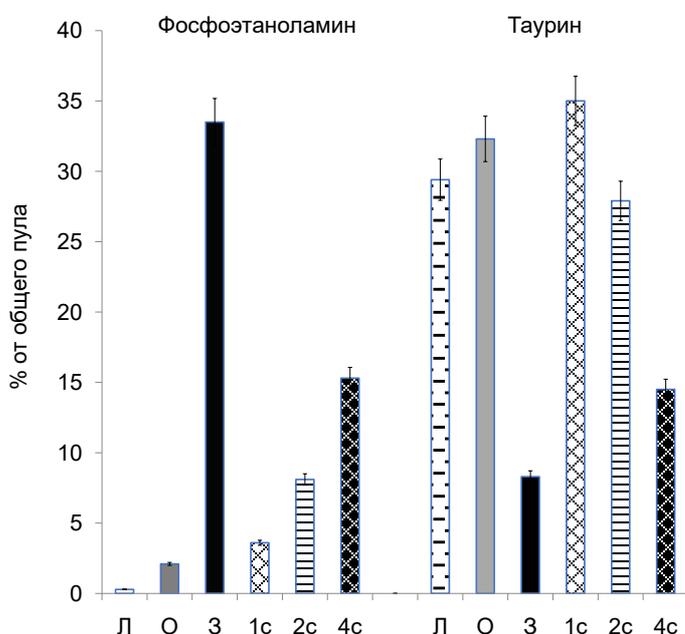
Лаборатория криобиологии и биофизики воды
Каранова М.В., Гагаринский Е.Л., Фесенко Е.Е., Ивличева Н.А.,
Андреев А.А., Захарова Н.М.

При изучении биохимических особенностей адаптации к низким температурам в процессе эволюции в нашей лаборатории обнаружено, что после окончания зимней спячки в течение весеннего, летнего и осеннего периодов в мышечной ткани, в плазме крови и в печени прудовых рыб *Percottus glehni* постепенно накапливается метаболически малоактивный вторичный метаболит, сульфаминокислота таурин.

В начале зимнего сезона количество таурина, по сравнению с весенним периодом, увеличивается многократно, однако в течение длительного гипобиоза это количество практически не изменяется (в отличие от первичных метаболитов). Аналогичные процессы происходят и в мышечной ткани амфибий *R. temporaria*.



Изменения содержания таурина в плазме крови, в мышечной ткани и в мозге ротана *Percottus glehni* в зависимости от сезонного изменения температуры (мкмоль/г сырой ткани)



Влияние сезонного изменения температуры и кратковременного холодового шока на уровень фосфоэтаноламина и таурина в мозге ротана (в % от общего пула)

Л – лето, О – осень, З – зима; 1с, 2с и 4с – время воздействия (начало сентября) холодным шоком (в сутках).

Однако в мозге рыб и амфибий количество таурина намного ниже, а при низких температурах снижается еще более. В то же время при низкотемпературном воздействии в мозге *P. glehni* в очень большом количестве аккумулируются другие вторичные метаболиты, фосфоэтаноламин и фосфосерин, практически отсутствующие при нормальных температурах.

Обнаружено, что на следующем этапе филогенеза, у земноводных, эти же соединения, фосфоэтаноламин и фосфосерин, оказались необходимыми в мозге *R. temporaria* уже не только при низких, но и при нормальных температурах. Их наличие и пропорция отражали теперь не только компенсаторную реакцию при низких температурах, но и усложнение структуры и функции ЦНС земноводных при температурах нормальных.

Благодаря экстремальным низкотемпературным воздействиям, экспрессия генов, стимулировавших синтез фосфоэтаноламина и фосфосерина в мозге рыб, получила новый импульс для следующего этапа эволюции холоднокровных животных.

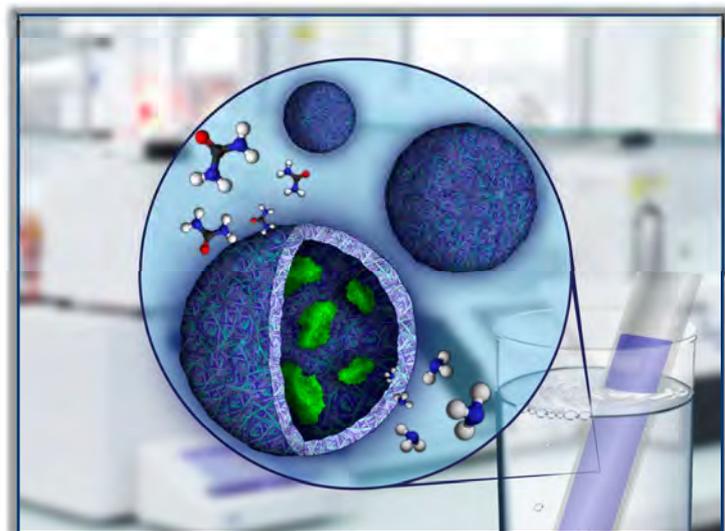
Ферментативная диагностическая система многократного применения

Лаборатория роста клеток и тканей ИТЭБ РАН
Ким А.Л., Мусин Е.В., Дубровский А.В., Тихоненко С.А.

Создан новый тип сенсорных систем, многократного использования, удобный для применения в медицинской диагностике и мониторинга биотехнологического производства.

Сенсорная система выполнена на основе полиэлектролитных микрокапсул (ПМК), закрепленных на твердом носителе и содержащих каталитически активные ферменты. Комплекс, образованный таким путем, представляет собой диагностическую пластину (ДП).

Исследования проводились на ферментах лактатдегидрогеназа (ЛДГ), алкогольдегидрогеназа (АДГ) и Уреаза.



Диагностическая пластина

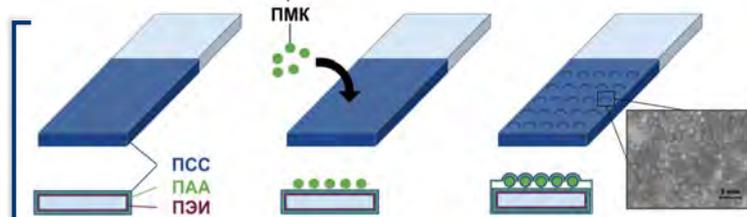
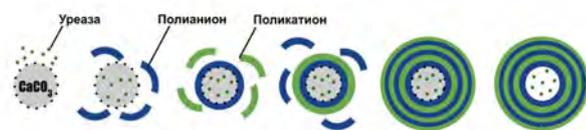
Для получения ПМК, использовался метод поочередного наслаивания противоположно заряженных полиэлектролитов на CaCO_3 частицы микроразмеров, которые удаляются на финальной стадии приготовления.

Полимерные слои ПМК полупроницаемы, что позволяет сохранить доступ анализируемого субстрата к реакционным центрам фермента, одновременно фермент изолирован от действия протеолитического воздействия внешней среды.

Таким образом:

- Фермент сохраняет активность не менее 5 месяцев
- Исследуемая жидкость не требует предварительной очистки
- Систему можно применять многократно

Данная система в перспективе может привести к автоматизации процесса анализа и созданию автономных анализирующих приборов.



Приготовление ПМК и нанесение их на пластину

	Диагностическая пластина	Набор КТ Д-ДС
1	16,2 мМ	15,9 мМ
2	10,9 мМ	11,3 мМ
3	19,3 мМ	20,1 мМ
4	15,4 мМ	15,9 мМ
5	38,2 мМ	39,9 мМ

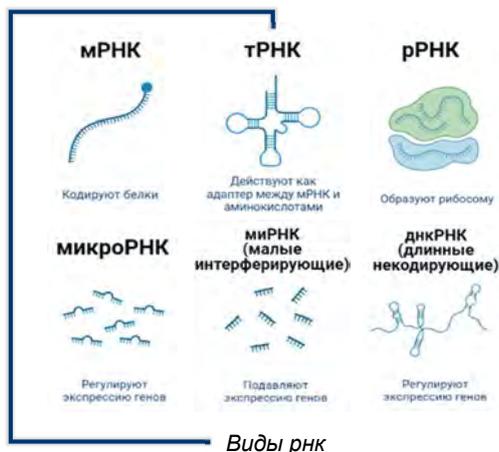
Сравнение концентрации мочевины 5 образцов, определенных диагностической пластиной и стандартным набором для определения мочевины КТ Д-ДС

Анализ транскриптомного профиля лейкозов для диагностических и прогностических целей

Лаборатория исследований генома ИТЭБ РАН
Колотова А.А., Фадеев Р.С., Ермаков А.М.

Острые лейкозы возникают в костном мозге и характеризуются накоплением бластных клеток и подавлением нормальных ростков кроветворения. Частота заболевания 3-5 первичных случаев на 100 000 человек в год. У детей острые лейкозы встречаются чаще среди всех гемобластозов.

Анализ транскриптомного профиля позволяет идентифицировать слияние генов и выделить повышающую и/или понижающую регуляцию критических, связанных с раком сигнальных путей в опухоли.

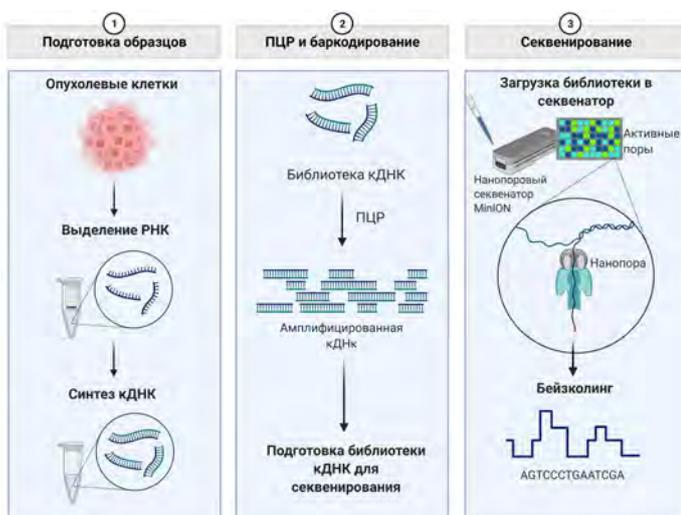


Наша цель – создать тест-систему и метод быстрой, недорогой и эффективной персонализированной диагностики и определения таргетной терапии раковых заболеваний (в частности – лейкозов) на основе данных транскриптомики.

Предлагаемое решение — нанопоровое секвенирование. Преимущества этого метода: быстрый анализ и его низкая стоимость.

Используемые методы оптического секвенирования значительно удорожают стоимость и увеличивают время анализа до месяца и более, что не приемлемо для быстрой постановки диагноза и определения таргетной терапии.

Исследования по изучению транскриптомного профиля некоторых типов лейкозов обеспечит подробное определение фенотипов клеток, что позволит успешно выделить молекулярные подтипы лейкозов особенно на ранних этапах заболевания, обеспечить таргетирование процедуры лечения и прогноза течения заболевания у пациентов.



стадии секвенирования

«Скрытый» структурный полиморфизм Уотсон-Криковских пар и функциональная организация геномной ДНК



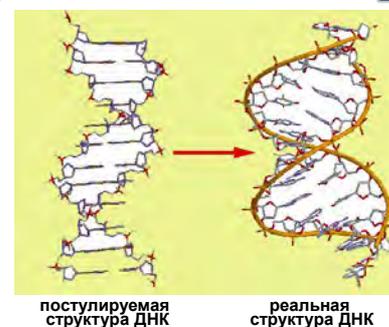
Лаборатория структуры и динамики биомолекулярных систем ИБК РАН

Комаров В.М., Самченко А.А., Кондратьев М.С.

Установлена физическая первопричина организации структурно-функциональных особенностей геномной ДНК в организмах про- и эукариот.

На основе анализа накопленных экспериментальных данных, с помощью методов компьютерной химии и сравнительной геномики **ДАНО ОБОСНОВАНИЕ РЕШАЮЩЕЙ РОЛИ** исходной би-стабильности пирамидального (sp^3 – гибридного) строения валентных связей NH_2 -группы азотистых оснований в:

- иницировании уникальной неоднозначности формы комплементарного водородного связывания оснований [2-х кратного полиморфизма в одиночных АТ-парах- и 4-х кратного полиморфизма в GC-парах];
- наблюдаемой высокой лабильности упорядочения Уотсон-Криковских пар в двойной спирали ДНК с доминированием «пропеллероподобных» и «ступенкообразных» форм;
- преимущественном участии аденин-тиминовых нуклеотидных треков в структуре геномной ДНК;
- формировании наибольшей предпочтительности использования кодонов, у которых в центральном, ключевом положении находится либо аденин (А), либо тимин (Т) (урацил (U));
- возникновении структуризации человеческого кариотипа по группам хромосом, обладающих схожим характером вклада GC-треков в составе экзонов белок-кодирующих генов.



Главный вывод работы:

Уотсон-Криковские GC-пары, несмотря на значительную энтальпию (≈ 21.0 ккал/моль) своего водородного связывания оснований, из-за повышенной предрасположенности к точечным спонтанным структурным перестройкам (мутациям) в системе комплементарного спаривания и расплетания двойных нуклеотидных цепочек, попросту оказываются «минимизированными» *Природой*, как менее предсказуемый элемент, в организации функциональных свойств ДНК. Доминированием нуклеотидных АТ-последовательностей достигается бóльшая надежность и стабильность протекания в живой клетке процессов сохранения и передачи генетической информации.



Экдизоновый рецептор насекомых-вредителей как мишень для фармакофорного поиска новых инсектицидов

Лаборатория структуры и динамики биомолекулярных систем ИБК РАН

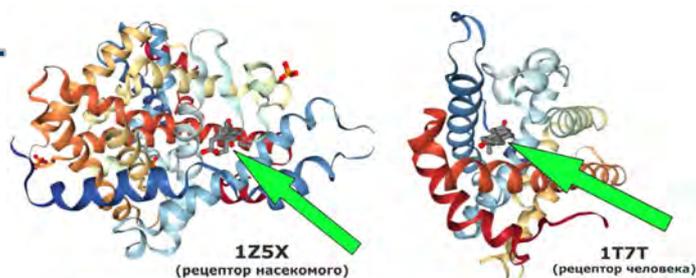
Кондратьев М.С., Самченко А.А., Комаров В.М., Хечинашвили Н.Н.

Исследованы механизмы связывания стероидных соединений с экдизоновыми рецепторами членистоногих. Это белки-мишени, которые отвечают за линьку и метаморфоз насекомых, их ингибирование является достаточным для подавления активности вредителей. Альфа-экдизон, экдизон, андростендиол, понастерон-А, тестостерон-А и дигидротестостерон образовали устойчивые комплексы с белком (код PDB **1Z5X**).

Для контроля нами также моделировалось взаимодействие лигандов со стероидным рецептором человека (**1T7T**). Важной представлялась ситуация, когда исследуемый лиганд связывался с рецептором насекомого, но на белок человека он влияния не оказывал.

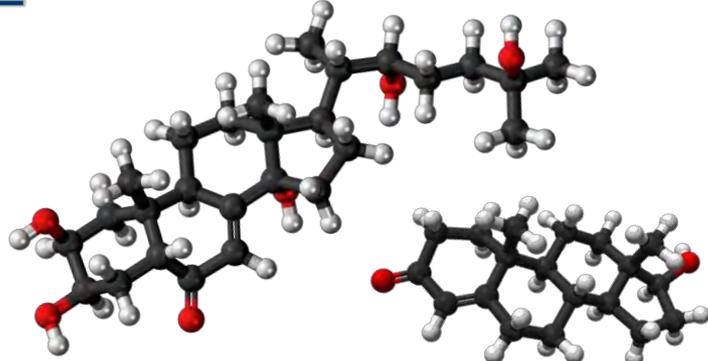


Белокрылка (*Aleyrodidae*) как носитель белка-мишени для селективных ингибиторов



Название лиганда	Аффинность к рецептору 1Z5X	Комментарий
Понастерон-А	-11.0 ккал/моль	воспроизведено экспериментальными связывание
Дигидротестостерон	-11.0 ккал/моль	в кармане для понастерона
Андростендиол	-10.9 ккал/моль	в кармане для понастерона
Тестостерон-А	-10.9 ккал/моль	в кармане для понастерона
Метриболол	-11.7 ккал/моль	в кармане для понастерона
Экдизон	-10.8 ккал/моль	в кармане для понастерона
Альфа-экдизон	-7.7 ккал/моль	другая часть глобулы
20E (20-гидроксиэкдизон)	-8.7 ккал/моль	в кармане для понастерона

Название лиганда	Аффинность к рецептору 1T7T	Комментарий
Дигидротестостерон	-11.1 ккал/моль	воспроизведено экспериментальное связывание
Понастерон-А	-7.1 ккал/моль	другая часть глобулы
Андростендиол	-11.3 ккал/моль	в кармане для дигидротестостерона
Тестостерон-А	-10.9 ккал/моль	в кармане для дигидротестостерона
Метриболол	-10.8 ккал/моль	в кармане для дигидротестостерона
Экдизон	-7.0 ккал/моль	другая часть глобулы
Альфа-экдизон	-7.8 ккал/моль	другая часть глобулы
20E (20-гидроксиэкдизон)	-7.4 ккал/моль	другая часть глобулы



Вещества с тетрациклической системой гонана (стероиды)

Расчеты методом гибкого докинга показали связывание понастерона-А в особом кармане белковой глобулы, там же место связывания андростендиола, тестостерона, дигидротестостерона и экдизона, а вот его замещенное производное, альфа-экдизон, связывается в другой части глобулы с гораздо меньшей аффинностью.



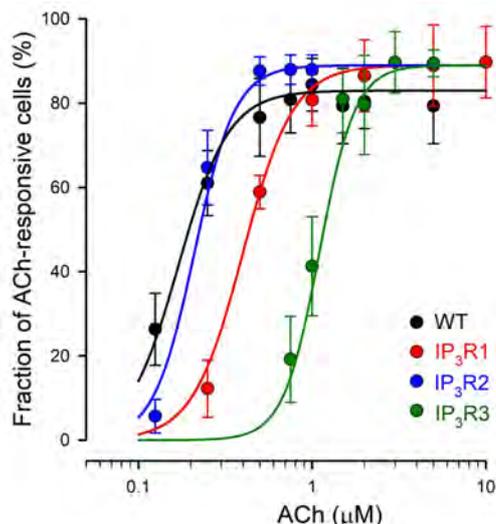
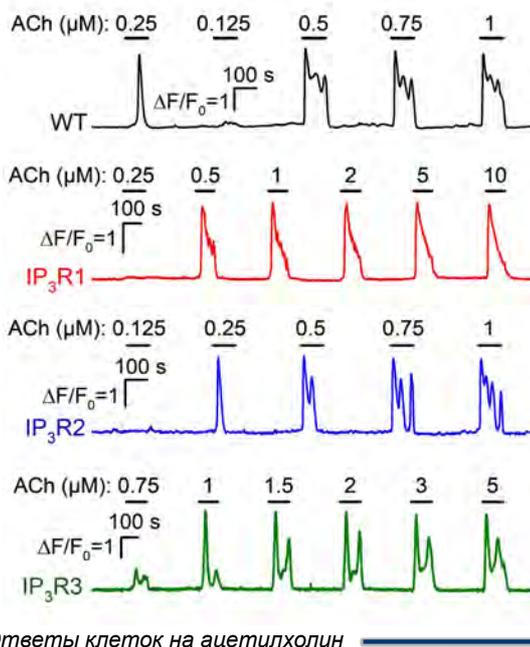
Нами выявлена избирательность в связывании набора лигандов с той или иной частью глобулы белка человека или насекомого, что позволяет нам вести направленную модификацию веществ стероидной природы или создать их низкомолекулярные миметики для избирательного ингибирования экдизонового рецептора насекомых-вредителей.

Роль различных изоформ IP₃-рецептора в агонист-индуцированной Ca²⁺-сигнализации

Лаборатория молекулярной физиологии клетки
Кочкина Е.Н., Рогачевская О.А., Копылова Е.Е., Колесников С.С.

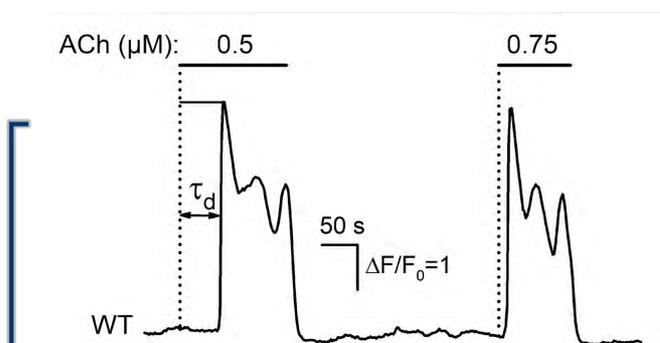
В генерации внутриклеточных Ca²⁺-сигналов, индуцированных агонистами, ключевую роль играет выброс Ca²⁺ из депо при участии IP₃-рецепторов (IP₃R). Три гена кодируют субъединицы IP₃R1, IP₃R2 и IP₃R3, обычно формирующие гомотетраммерные Ca²⁺-каналы.

Для исследования роли каждой изоформы нами были последовательно инактивированы два из трех кодирующих их генов с использованием CRISPR/Cas9 технологии. Были получены клеточные моноклоны с единственной функциональной изоформой (IP₃R1, IP₃R2 или IP₃R3) и был проведен функциональный анализ ацетилхолин (ACh)-индуцированных Ca²⁺-сигналов с использованием микрофотометрии и флуоресцентного Ca²⁺-зонда Fluo-4.

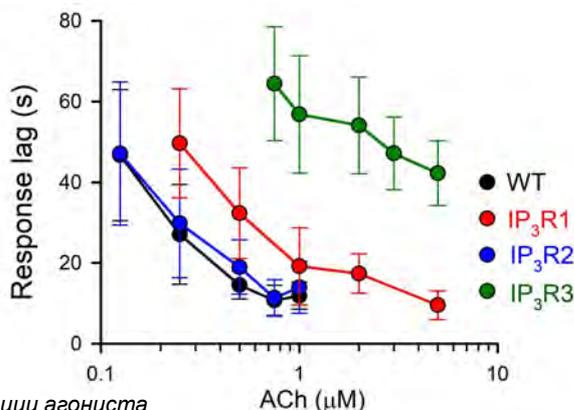


Зависимость количества клеток от концентрации агониста

Оказалось, что как и в случае клеток HEK293 дикого типа (WT), в которых функциональны все три изоформы, клетки моноклонов генерировали Ca²⁺-ответы на ACh по принципу «всё или ничего»: при концентрации ниже пороговой ответы не дектировались, тогда как при различных дозах выше пороговой Ca²⁺-сигналы кинетически и по амплитуде были идентичны. Клетки WT и IP₃R2 обладали схожей чувствительностью к ACh (порог ~ 250 нМ), тогда как клетки IP₃R1 и IP₃R3 демонстрировали пороги ~ 0,5 и 1 мкМ, соответственно.



Зависимость лагпериодов ответов от концентрации агониста



Лагпериоды ответов (время, необходимое для достижения половины максимального значения ответа) градуально уменьшались при увеличении концентрации агониста. В целом, чувствительность модифицированных клеток описывалась рядом, соответствующим ряду аффинностей изоформ IP₃R к IP₃: IP₃R2 > IP₃R1 > IP₃R3.

ИНДУКЦИЯ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК В КЛЕТКАХ СИСТЕМЫ КРОВИ У МЫШЕЙ, ПОДВЕРГНУТЫХ ВОЗДЕЙСТВИЮ РЕДКО- И ПЛОТНОИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ, И У ИХ ПОТОМКОВ

¹Лаборатория радиационной молекулярной биологии,
²Лаборатория клеточной инженерии

Е.А. Кузнецова¹, О.М. Розанова², Е.Н. Смирнова²,
С.А. Абдуллаев¹, С.И. Заичкина², Н.П. Сирота¹

Цель работы: исследование реакции клеток системы крови в разные сроки после воздействия редко- и плотноионизирующих излучений (моделирование высотных полетов) у мышей и их потомков на молекулярном и клеточном уровнях. Повреждение генома на молекулярном уровне оценивали комета-тестом (уровень повреждений ДНК - процент ДНК в хвосте «кометы» - % TDNA) в лейкоцитах крови, на клеточном уровне - микроядерным тестом в костном мозге, после воздействия на мышей рентгеновским излучением в дозах 1, 3 и 5 Гр и низкоинтенсивным плотноионизирующим излучением (НПИ) на ускорителе протонов с энергией 70 ГэВ, г. Протвино в дозах 0.14 и 0.35 Гр, а также комбинированным воздействием этих излучений.

Таблица 1. Уровень повреждений ДНК лейкоцитов и их долей с неповрежденной и высокофрагментированной ДНК в крови и количество полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ) с микроядрами (МЯ) в костном мозге мышей при воздействии НПИ в дозах 0.14 и 0.35 Гр и последующем (через 24 ч) воздействии рентгеновского излучения в дозе 1.5 Гр.

Варианты облучения	Лейкоциты периферической крови			Клетки костного мозга		
	%TDNA	Лейкоциты с неповрежденной ДНК, %	Лейкоциты с высокофрагментированной ДНК, %	ПХЭ	ПХЭ с МЯ	ПХЭ с МЯ, %
0	2.7±1.3	48.2±9.3	1.3±1.2	15 000	45	0.30±0.02
0.30 Гр, ¹	2.0±0.5	56.8±6.5	0.4±0.1	15 000	320	1.80±0.45
0.14 Гр	3.9±0.8	51.3±7.1	3.5±2.1	15 000	80	0.53±0.03*
0.35 Гр	6.0±1.6*	33.0±8.2*	5.0±1.9*	15 000	105	0.86±0.07*
0+1.5 Гр ¹	2.1±0.7	59.6±6.8	1.4±0.8	15 000	105	7.00±0.61
0.14 Гр + 1.5 Гр ¹	5.0±1.2*	42.5±4.0	1.5±0.7	15 000	110	7.30±0.65
0.35 Гр + 1.5 Гр ¹	4.2±1.0*	38.4±5.5	2.9±1.5	15 000	100	6.60±0.52

*- $p < 0.05$ по сравнению с соответствующим контролем. ¹ – воздействие рентгеновского излучения

Таблица 2. Уровень повреждений ДНК лейкоцитов и их долей с неповрежденной и высокофрагментированной ДНК в крови и количество ПХЭ с МЯ в костном мозге мышей F₁-поколения от необлученных и облученных НПИ в дозах 0.14 и 0.35 Гр и последующем облучении в дозе 1.5 Гр.

Доза облучения отцов, НПИ, Гр	Доза облучения потомков, X-лучи, Гр	Лейкоциты периферической крови			Клетки костного мозга		
		%TDNA	Лейкоциты с неповрежденной ДНК, %	Лейкоциты с высокофрагментированной ДНК, %	ПХЭ	ПХЭ с МЯ	ПХЭ с МЯ, %
0	Спонтанный уровень	5.7±1.0	47.1±4.6	5.6±4.3	15 000	50	0.33±0.04
0	1.5	7.4±1.3	35.2±9.7	4.8±1.3	15 000	1100	8.00±0.46
0.14	0	6.6±2.1	35.6±14.4	7.0±2.1	15 000	58	0.38±0.05
0.35	0	4.7±1.5	35.4±7.6	3.2±1.8	15 000	37	0.44±0.04
0.14	1.5	8.1±3.2	34.6±15.0	6.5±2.8	15 000	1300	8.66±0.05
0.35	1.5	4.3±0.5*	50.2±5.8*	2.1±0.2*	15 000	1150	7.70±0.06

Было обнаружено:

- динамика изменения количества лейкоцитов с неповрежденной и высоко фрагментированной ДНК в разные интервалы времени после острого воздействия рентгеновского излучения соответствует кривым, описывающим изменения количества клеток крови мышей в эти сроки;
- увеличение уровня повреждений ДНК в зависимости от дозы НПИ как на молекулярном, так и на цитогенетическом уровнях;
- все повреждения ДНК у потомков облученных НПИ животных достоверно не отличаются от таковых у потомков необлученных родителей, как на молекулярном, так и на цитогенетическом уровнях;
- уменьшение радиочувствительности потомков мышей, облученных НПИ в дозе 0.35 Гр, выявлено только на молекулярном уровне, что может свидетельствовать о возможности трансгенерационной передачи повреждений генома.

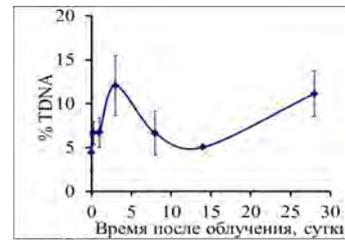


Рис. 1. Изменение уровня повреждений ДНК (% TDNA) лейкоцитов крови в разные сроки после облучения мышей в дозе 5 Гр.

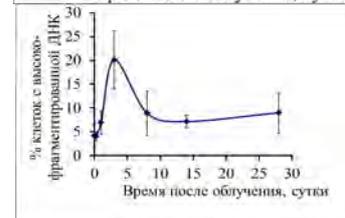


Рис. 2. Изменение количества лейкоцитов с высокофрагментированной ДНК в разные сроки после облучения мышей в дозе 5 Гр.

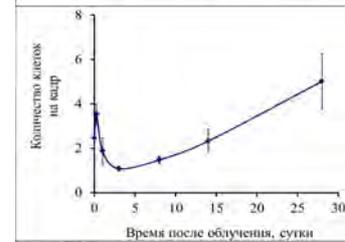


Рис. 3. Изменение количества лейкоцитов в разные сроки после облучения мышей в дозе 5 Гр, определенное как среднее количество клеток на кадр.

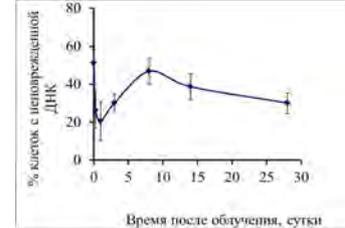


Рис. 4. Изменение количества лейкоцитов с неповрежденной ДНК в разные сроки после облучения мышей в дозе 5 Гр.

Трансплантологические способы компенсации патологических состояний

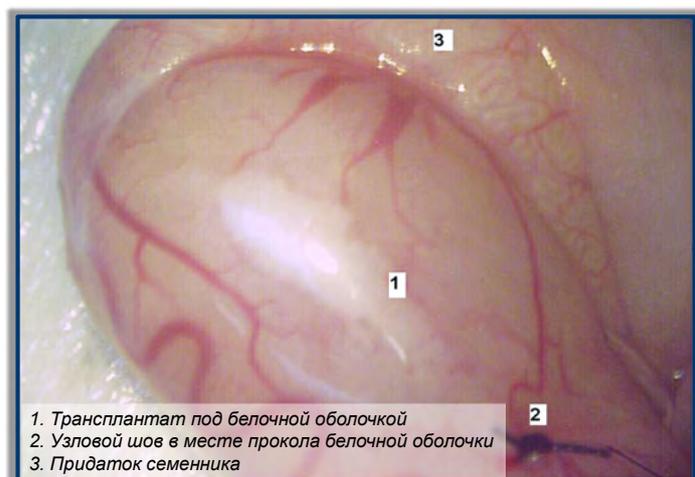
Лаборатория клеточно-тканевых механизмов компенсации функций биообъектов ИТЭБ РАН

Куликов А.В., Архипова Л.В., Гаврилюк В.Б., Руднев В.Р., Куликова Л.И

В течение многих лет сотрудниками ведутся приоритетные работы по трансплантации тканей разной природы в иммунопривилегированные зоны организма, что дает возможность не применять в работе иммунодепрессанты и создавать новые методы компенсации различных патологических состояний.

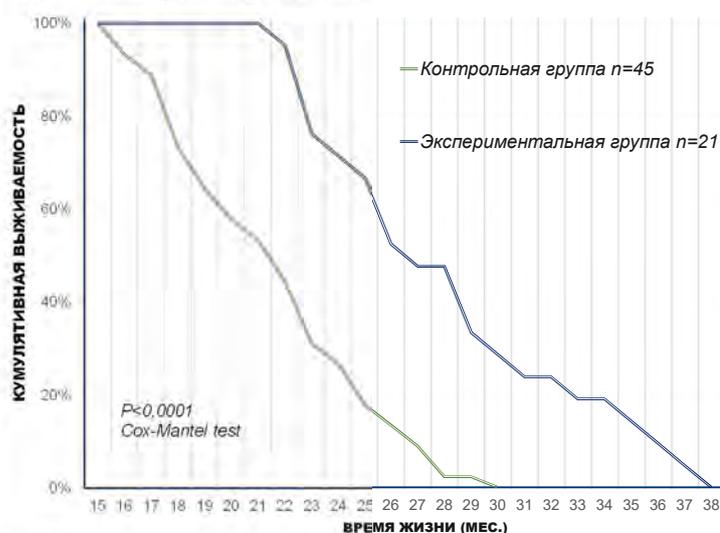
В соавторстве с сотрудниками разных лабораторий ИТЭБ РАН и других ведомств, разработано несколько способов долговременной компенсации таких экспериментальных патологических состояний, как диабет, черепно-мозговые травмы, сублетальное и летальное радиационное облучение, гипогонадизм* и др.

* Гипогонадизм у мужчин – патологическое состояние обусловленное уменьшением уровня андрогенов в организме или снижением чувствительности к ним



Семенник после аллотрансплантации микрофрагментов ткани неонатальной поджелудочной железы

Выживаемость крыс Каплана-Майера без и после трансплантации тимуса от молодых к стареющим животным



У прооперированных крыс:

- Средняя продолжительность жизни больше на 23,4%
- Минимальная продолжительность жизни - на 24,6%
- Максимальная продолжительность жизни - на 28,9%

С помощью трансплантации иммунокомпетентных тканей удалось добиться замедления ослабления Т-клеточного иммунитета с возрастом и достоверного увеличения минимальной, средней и максимальной продолжительности жизни животных.

Результаты экспериментальных работ по энкопрезу успешно внедрены в ограниченную клиническую практику.

СУКЦИНАТ – ВРАГ И ДРУГ

Лаборатория энергетики биологических систем ИТЭБ РАН
Маевский Е.И., Гришина Е.В., Кожурин М.В., Розенфельд А.С.

Сигнальная функция субстрата цикла Кребса **сукцината (С)** установленный факт. Прирост концентрации $[C] > 5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, **выход С** из митохондрий и клеток, тормозят протеолиз гипоксии-индуцируемого фактора **HIF1 α** , активируют сукцинирование белков и сукцинатный рецептор **SUCNR1** клеток аутокринно, паракринно и эндокринно (рис.1).

Ответная реакция на рост [С] неоднозначна и зависит от длительности и величины сигнала и активности сукцинатдегидрогеназы (**SDH**). Так, дефекты SDH β или SDH α сочетаются с активацией IL-1 β или IL-10, соответственно.

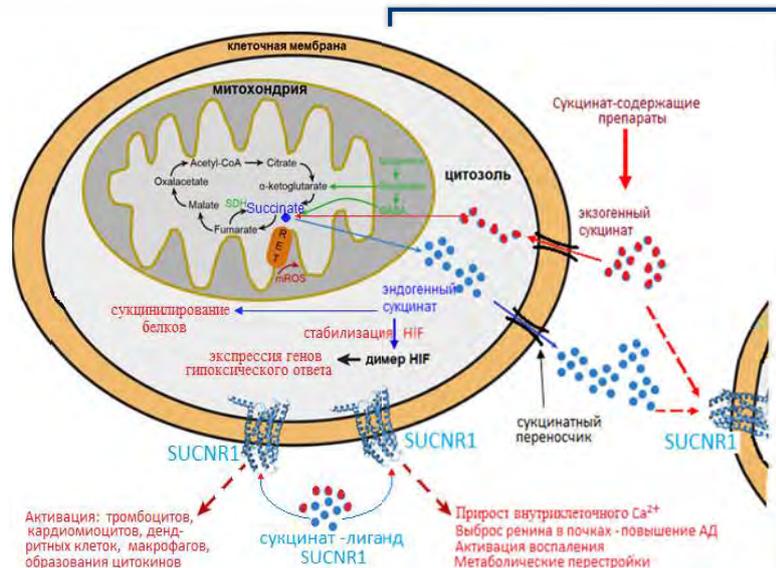


Рис.1 Схема реализации эндогенного и экзогенного сукцинатного сигнала. RET – дыхательная цепь

Рис 2 А. Влияние сукцинат-содержащей композиции (ССК) на детоксикационную функцию печени крыс при затравке алкоголем

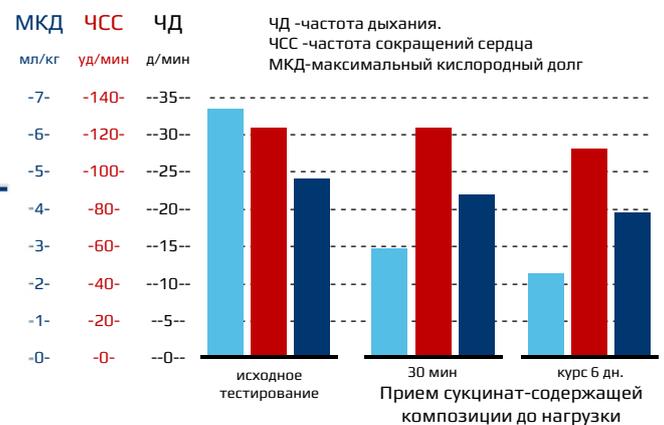
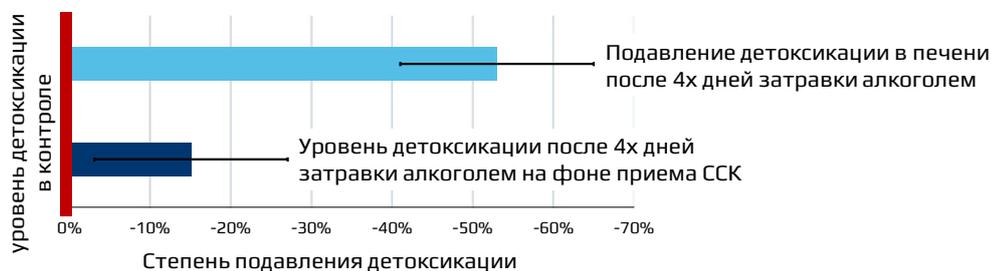


Рис 2 Б. Влияние сукцинат-содержащей композиции (ССК) на реакцию спортсмена на физическую нагрузку

При метаболическом синдроме прирост концентрации **эндогенного С** в 3-20 раз длится от часов до нескольких лет, инициирует гипертензию, реперфузионные повреждения, стеатозный гепатит, колит и даже онкогенез.

Поступающий из вне **экзогенный С** может вызывать прирост $[C]$ в физиологическом диапазоне концентраций длительностью до 10 мин при внутривенном введении, а при поступлении через ЖКТ до 60 мин, и уменьшает гипертензивные реакции, повышает устойчивость к гипоксии, интоксикации, нагрузкам (рис.2) и инфекции.

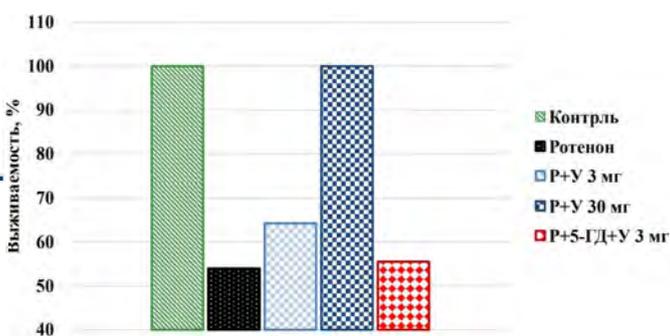
Новый подход для предупреждения и лечения болезни Паркинсона

Лаборатория митохондриального транспорта ИТЭБ РАН
Мосенцов А.А., Белослудцева Н.В., Хмиль Н.В., Хундрякова Н.В., Миронова Г.Д.

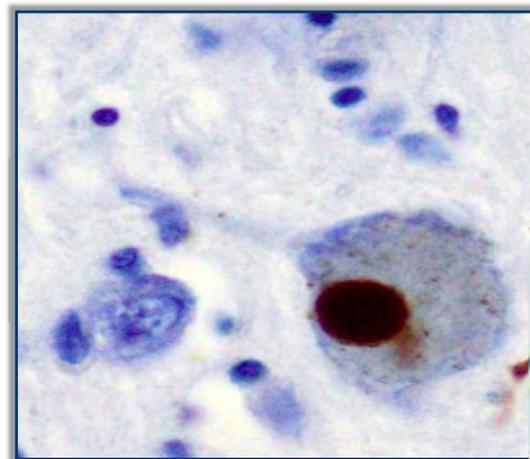
Новый подход для профилактики и лечения сердечно-сосудистых патологий, основанный на нормализации окислительного и энергетического обмена, был успешно применён на модели болезни Паркинсона (БП).

Для создания синдрома Паркинсона (СП) у крыс использовали ротенон. В отличие от других нейротоксинов используемых для моделирования БП, ротенон приводит к накоплению телец Леви в черной субстанции среднего мозга.

Для коррекции СП были подобраны концентрации пуринового нуклеозида уридина (У) предупреждающие смертность животных.



Выживаемость животных в исследуемых группах на 28 сутки после введения Ротенона (n=40)



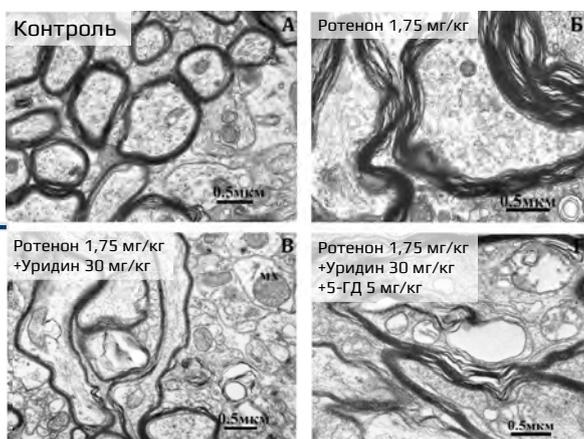
Ультраструктура нейрона черной субстанции головного мозга крыс на 28 сутки после введения Ротенона. Коричневым окрашен α -синуклеин (тельца Леви).

Уридин предотвратил когнитивные и двигательные расстройства, нарушения ионного и окислительного обмена, а также структурные изменения в митохондриях и миелиновой оболочке нейронов мозга крыс с СП.

Уридин увеличивает концентрацию в ткани УДФ, что как показал ингибиторный анализ, приводит к активации митохондриального АТФ-чувствительного канала. Это приводит снижению скорости образования АФК, ответственных за патогенез БП.

Нейропротекторное действие уридина может быть обусловлено также увеличением в тканях УТФ, который усиливает синтез гликогена, т.е. влияет на клеточную биоэнергетику, и активирует синтез фосфолипидов мозга, необходимых для восстановления мембранных структур клеток (в нашем случае миелина).

Терапевтическое действие уридина проявляется при 30 мг/кг, что полностью предупреждает смертность животного от СП.



Ультраструктура черной субстанции мозга после 28 дней введения ротенона.

Новый метод контрастирования в ультразвуковой диагностике

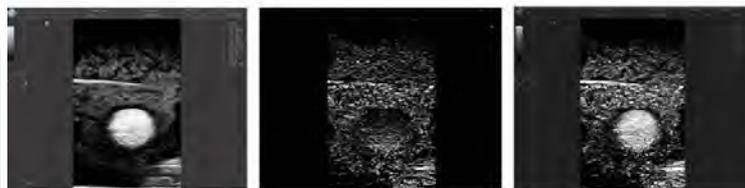
Лаборатория биологических эффектов
неионизирующих излучений ИБК РАН*, ИТЭБ **

Пашовкин Т.Н.,* Хижняк Е.П.**

Создан новый метод неинвазивного контрастирования границ неоднородностей в биологических тканях без использования вводимых внутривенно контрастирующих препаратов для ультразвуковой диагностики.

Метод основан на физиологически безопасном нагреве ($<1^{\circ}\text{C}$) границ неоднородностей в тканях за счет поглощения сдвиговых волн (при угловой трансформации продольных волн в сдвиговые) на границах неоднородностей в тканях с использованием дополнительного ультразвукового излучателя.

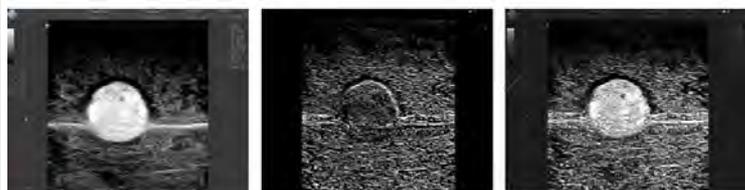
Исследования проводились на физических гетерогенных моделях биологических тканей с акустомеханическими параметрами, аналогичными параметрам тканей и тканей лабораторных животных.. Контрастирование в клинических условиях проведено на базе 72 клиники и РНХЦ (г.Москва) врачами, специалистами ультразвуковой диагностики..



1 2 3 **А**

Эхотомограммы неоднородностей в физической модели биологической ткани: 1 – исходная картина, 2 – дифференциальное изображение, 3 – изображение после контрастирования. А - модуль сдвига среды больше модуля сдвига неоднородности.,

Б - модуль сдвига среды меньше модуля сдвига неоднородности



1 2 3 **Б**



Эхотомограммы печени
1-исходная картина, 2- картина после УЗ контрастирования .



Эхотомограммы печени (гемангиома).
1-исходная картина, 2- картина после УЗ контрастирования .

При изучении печени контрастное изображение имело более яркие, четкие контуры, четче определялось дистальное усиление ультразвукового сигнала, боковые тени за образованием..

Гиперэхогенные структуры легче визуализировались и распознавались на фоне общего затемнения изображения окружающих тканей при контрастировании..

Гипоэхогенные зоны выявлялись более четко, визуализировались даже мелкие метастазы в ткани печени.

На дифференциальных картинах визуализируются все области нагрева в тканях. Таким образом, появляется дополнительная информация о свойствах тканей.

Метод позволяет получать на УЗИ-диагностических аппаратах среднего класса изображения по качеству и информативности превосходящие аналогичные изображения, полученные на аппаратах Прима и экспертного класса.

Метаботропные рецепторы глутамата

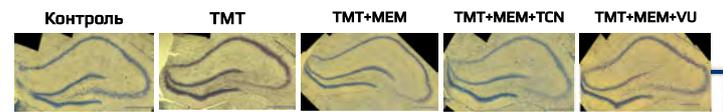
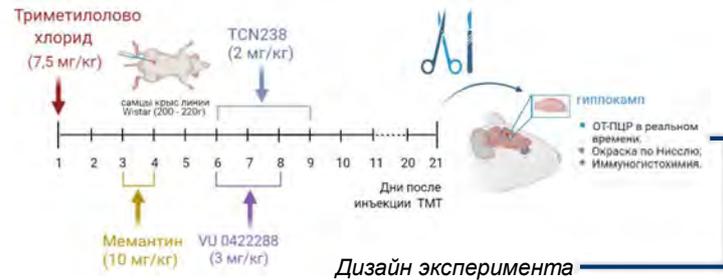
- мишени для защиты мозга при экспериментальной нейродегенерации гиппокампа крыс



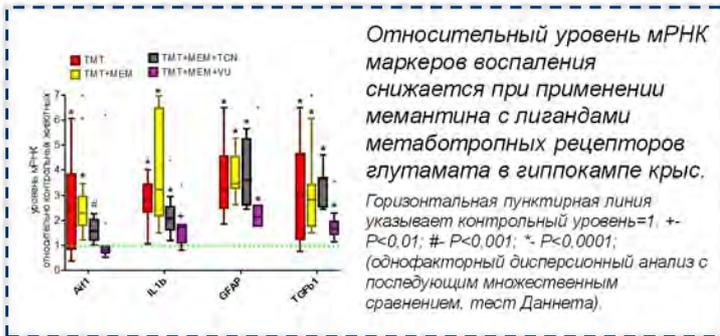
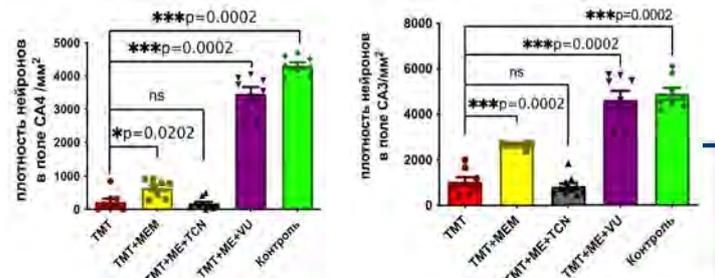
Лаборатория экспериментальной нейробиологии ИТЭБ РАН
Першина Е.В., Черноморец И.Ю., Фёдоров Д.А., Жуйкова Н.С., Архипов В.И.

Изучение фундаментальных механизмов нейродегенерации – важная область исследований, т.к. существующие методы терапии нейродегенеративных заболеваний в большинстве случаев не эффективны. Понимание роли метаботропных рецепторов глутамата (мГлу) в инициации и протекании нейродегенеративных процессов расширяет возможности для терапии этих социально-значимых заболеваний.

Наши исследования показали возможность снижения экспериментально вызванной нейродегенерации в гиппокампе крыс с помощью лигандов мГлу рецепторов.



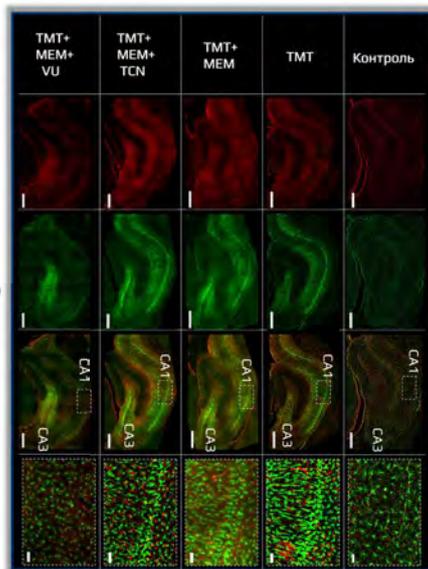
Срезы гиппокампа мозга крыс



Нейроны в полях гиппокампа CA3 и CA4 выживают после интоксикации триметилоловом (TMT) в условиях ингибирования НМДА рецепторов мемантином совместно с активацией мГлу рецепторов Группы III с помощью VU0422288

Полученный эффект обусловлен снижением нейровоспаления, который развивается под влиянием триметилолова и сопровождается активацией глиальных клеток и изменением уровней мРНК вовлеченных в нейровоспаление. Примененная нами фармакотерапия способствует снижению маркеров нейровоспаления в гиппокампе.

Примененное воздействие снижает число активированных астроцитов (GFAP-красное окрашивание) и микроглии (IBA1-зеленое окрашивание) в гиппокампе крыс при нейродегенерации



Зеленое мечение (IBA1)-микроглия

красное мечение(GFAP) - астроциты

Масштабная шкала 500 мкм для панорамных изображений среза гиппокампа и 50 мкм для фрагмента поля CA1 гиппокампа

Животные с нейродегенерацией, вызванной TMT 7,5 мг/кг и последующим фармакологическим подавлением эксайтотоксичности с помощью мемантина 10мг/кг (MEM) или комбинацией (MEM+TCN238) или (MEM+VU0422288).

Срезы гиппокампа, отражающие локализацию и морфологию микроглии и астроцитов.

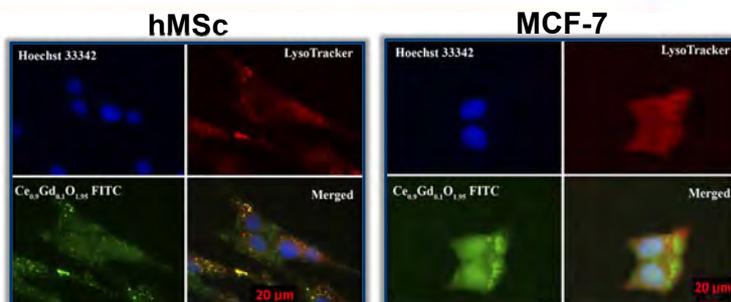
Наночастицы CeO_2 с гадолинием, в качестве контрастного агента для МРТ

Лаборатория роста клеток и тканей ИТЭБ РАН

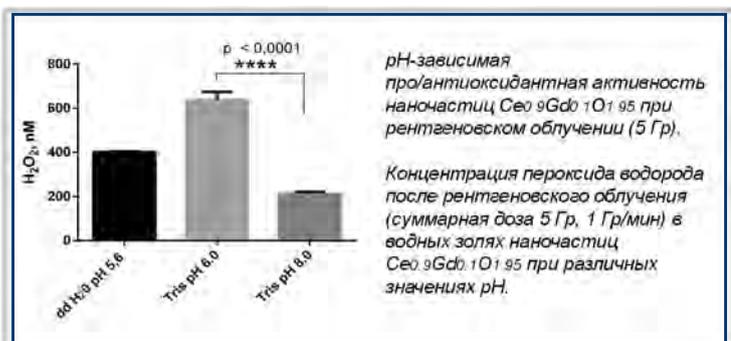
Попов А.Л., Абакумов М.А., Савинцева И.В., Ермаков А.М., Попова Н.Р., Иванова О.С., Колманович Д.Д., Баранчиков А.Е., Иванов В.К.

Создан новый нетоксичный положительный контрастный агент для магнитно-резонансной томографии.

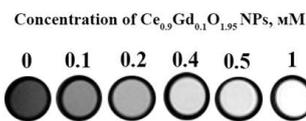
Основой для нового контрастного агента является наноконкомплекс оксида церия (CeO_2) с гадолинием, покрытый биосовместимым стабилизатором - декстраном. Такая стабилизация обеспечивает не только хорошую биосовместимость для нормальных клеток, стабильности хранения препарата во времени, высокую степень контрастирования (релаксивности), но и способность эффективно накапливаться в раковых клетках молочной железы, приводя к их гибели.



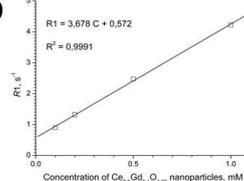
FITC-меченные наночастицы $\text{Ce}_{0.9}\text{Gd}_{0.1}\text{O}_{1.95}$ использовали для анализа внутриклеточной локализации наночастиц. Ядра клеток окрашивали Hoechst 33342, Лизосомы окрашивали LysoTracker-Red. Внутриклеточная локализация наночастиц $\text{Ce}_{0.9}\text{Gd}_{0.1}\text{O}_{1.95}$ после 24-часовой инкубации



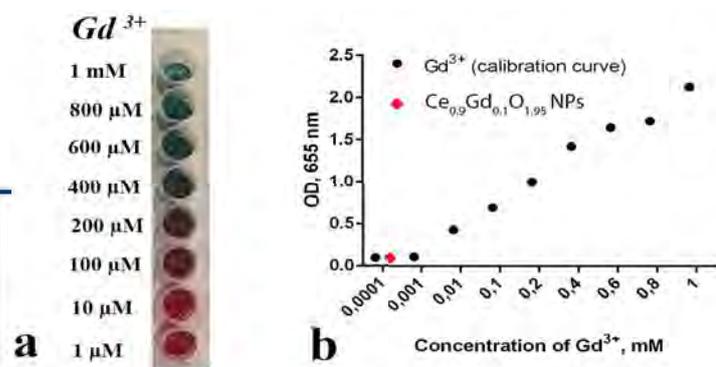
a



b



T1-взвешенные изображения (a) и скорости релаксации R_1 (b) для коллоидных растворов НЧ $\text{Ce}_{0.9}\text{Gd}_{0.1}\text{O}_{1.95}$ при различных концентрациях



содержание свободного гадолиния в физ-растворе после инкубации с наночастицами $\text{Ce}_{0.9}\text{Gd}_{0.1}\text{O}_{1.95}$.

a – внешний вид растворов $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3$ (0.001–1.000 mM) в смеси с арсеназо III, (в качестве контроля)

b – Значения оптической плотности (ОП) при 655 нм контролей (черные точки) и коллоидного раствора наночастицами $\text{Ce}_{0.9}\text{Gd}_{0.1}\text{O}_{1.95}$, смешанного с арсеназо III (красная точка).

Несмотря на большую историю использования МРТ контрастов на основе гадолиния, сегодня существует проблема с выявленными побочными эффектами, которые развиваются на фоне нестабильности препаратов. Это связано с токсичностью гадолиния для человеческих тканей, что может привести к заболеваниям почек и нарушениям со стороны нервной системы. На сегодняшний день первое поколение МРТ контрастов на основе гадолиния полностью под запретом в США, Японии, Великобритании и во многих странах ЕС.

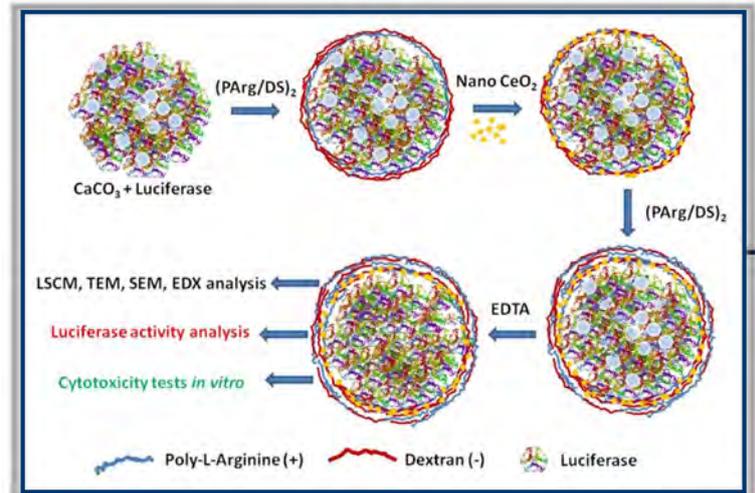
В рамках нашей работы синтезирован перспективный тераностический агент, способный эффективно контрастировать опухолевые клетки и вызывать селективную гибель раковых клеток.

Система доставки БАВ на основе CeO_2 - функционализированных ПМК

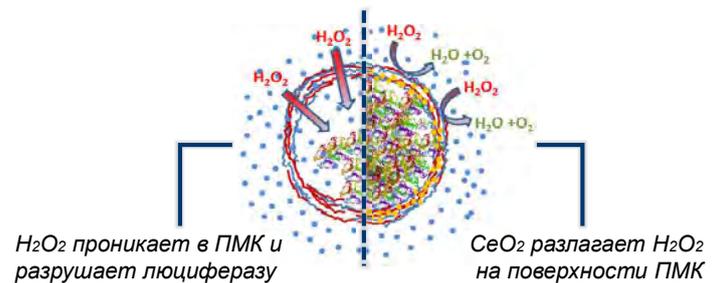
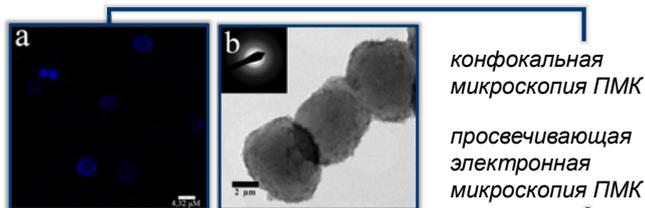
Лаборатория роста клеток и тканей ИТЭБ РАН
 Попов А.Л., Попова Н.Р., Шербаков А.Б., Сухоруков Г.Б., Иванов В.К.

Показана возможность эффективной инкапсуляции люциферазы в биodeградируемые полиэлектролитные микрокапсулы (ПМК), модифицированные терапевтически активными наночастицами диоксида церия (CeO_2).

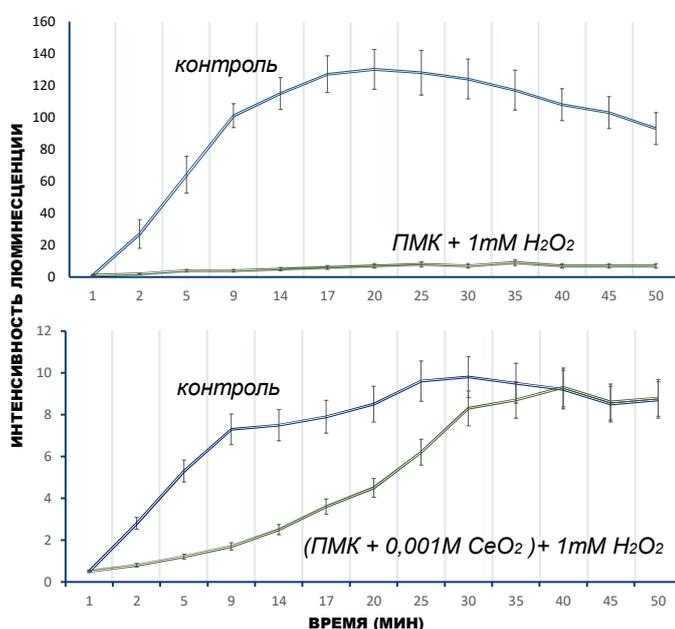
Показано, что модификация микрокапсул цитрат-стабилизированными наночастицами CeO_2 обеспечивает сохранение высокой активности инкапсулированного белка при воздействии повреждающего агента - перекиси водорода. Такая структура микрокапсулы позволяет обеспечить сохранность инкапсулированного вещества в агрессивных условиях окружения, а также обеспечить его пролонгированное высвобождение из нее.



Синтез полиэлектролитных микрокапсул, модифицированных CeO_2 и содержащих люциферазу



Люциферазная активность в ПМК без CeO_2 и с 10^{-3} M CeO_2



Наночастицы CeO_2 способны обеспечивать «активную» защиту люциферазы от перекиси водорода и «пассивную» защиту от малых молекул. Высокая концентрация наночастиц CeO_2 в оболочке микрокапсул способна предотвратить попадание субстрата к ферменту в ядро, а снижение концентрации наночастиц CeO_2 позволяет повысить активность люциферазы, сохраняя при этом эффективность защиты от перекиси водорода.

Использование редокс-активных наночастиц в структуре микрокапсул позволит создать новые диагностические и терапевтические препараты для эффективного лечения и диагностики.

Эндолизины бактериофагов как антибактериальные средства

Лаборатория ЯМР-исследований биосистем ИТЭБ РАН
 Прохоров Д.А., Азев В.Н., Микулинская Г.В., Чулин А.Н., Молчанов М.В.,
 Уверский В.Н., Кутышенко В.П

Методом ЯМР высокого разрешения установлена пространственная структура L-аланоил-D-глутаматпептидазы – эндолизина бактериофага T5 (EndoT5) в растворе.

Аминокислотные остатки, координирующие соответствующие ионы Zn^{2+} в каталитическом центре и Ca^{2+} в составе регуляторной петли фермента, указаны на рисунке. В составе этой петли обнаружен консервативный остаток Trp 114, экспонирующийся на поверхность при связывании иона Ca^{2+} и, предположительно участвующий в опознавании субстрата.

Эндолизины бактериофагов RB49 (EndoRB49) и RB43 (EndoRB43) относятся к тому же подсемейству пептидаз M15_C как и эндолизин бактериофага T5. В отличие от последнего они лишены регуляции ионами кальция и обладают умеренной гомологией (от 35 до 44% попарной идентичности).

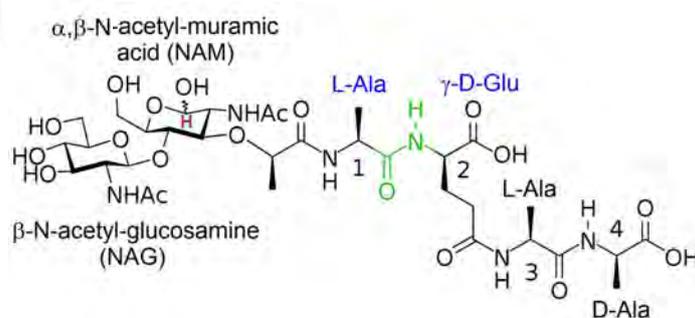
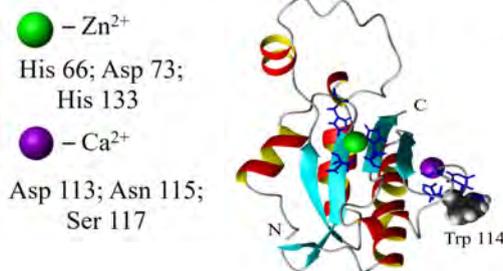
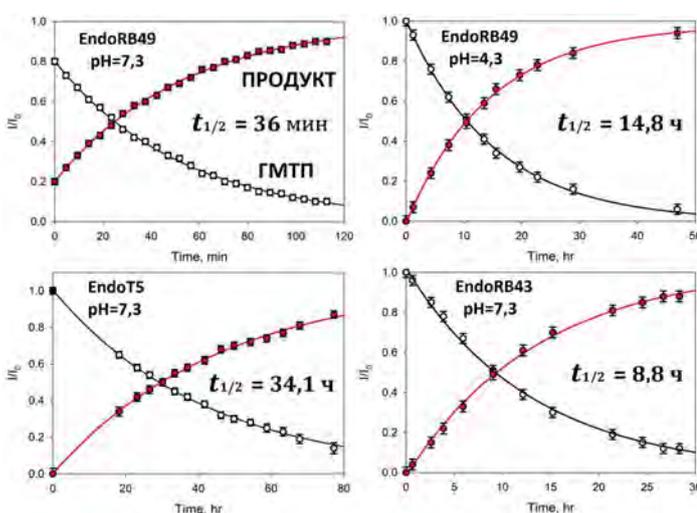
Деградация миметика $f(t) = a \cdot e^{-\lambda t}$

Накопление продуктов реакции : $f(t) = a \cdot (1 - e^{-\lambda t})$

a – коэффициент, зависящий от концентрации,

λ – коэффициент затухания.

Время полураспада: $t_{1/2} = \ln 2 / \lambda$



Строение растворимого миметика пептидогликана - глюкозаминилмурамилтетрапептида (ГМТП)

Выводы

- Пептидазы EndoRB49; EndoRB43 и EndoT5 гидролизуют миметик пептидогликана (ГМТП) специфически по связи L-Ala 4 - D-Glu 5.
- При оптимальном pH= 7,3 скорость гидролиза миметика падает в ряду: EndoRB49 > EndoRB43 > EndoT5.
- При pH= 4,3 пептидаза EndoRB49 проявляет активность, сопоставимую с активностями пептидаз EndoRB43 и EndoT5 при pH= 7,3. В аналогичных условиях активности EndoRB43 и EndoT5 не наблюдается.
- Активность EndoRB49 при pH= 4,3 указывает на меньшую субстратную селективность фермента и потенциально более широкий спектр бактериолитической активности.
- Полученный миметик может быть использован для изучения кинетики гидролиза и связывания субстрата другими пептидогликангидролазами, а также для доказательства сайта гидролиза этих ферментов.

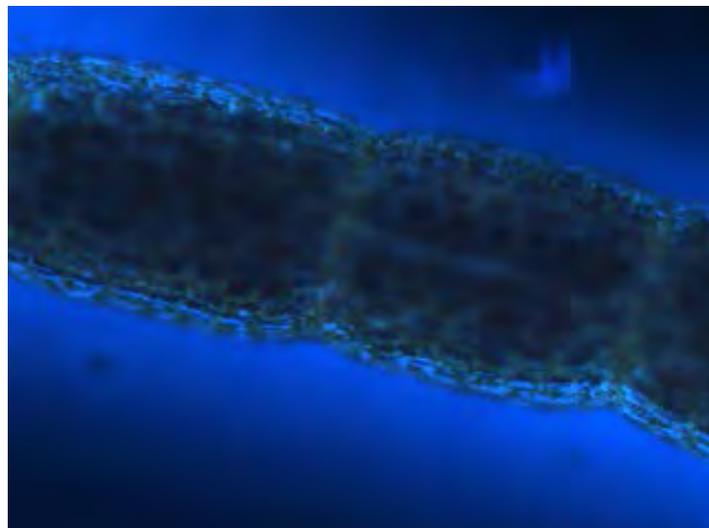
Нейротрансмиттеры (биомедиаторы) в растительной клетке

Лаборатория микроспектрального анализа клеток и
клеточных систем ИБК РАН

В.В. Рощина



В растительной клетке найдены соединения, известные как нейротрансмиттеры животных. В мембранах - плазмалемме и внешних мембранах органелл - найдены компоненты холинергической (холинэстераза) и аминергической (дофамин и серотонин, гистамин) систем. Исследования проводили на специально подобранных модельных системах: одиночных клетках, изолированных органеллах и специализированных секреторных клетках в интактных клетках и изолированных вакуолях, хлоропластах, многоклеточных секреторных структурах и в экскретатах клеток обнаружен фермент холинэстераза.



Флуоресценция в реакции на гистамин у харовой водоросли. Виден светящийся секрет клетки

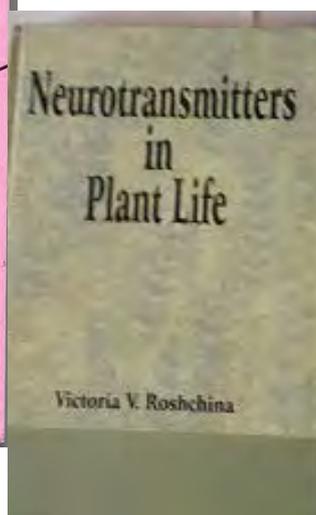


Холинэстераза в наружной вакуолярной мембране (окраска Fast Red)

Функции и общебиологическое значение присутствия нейротрансмиттеров в растениях впервые проанализировано в ряде монографий. Рассмотрена их роль в эволюции сигнальных систем клетки.

Предложено использовать модельные растительные системы для индикации состояния окружающей среды при стрессах и для анализа фармацевтического сырья лекарственных растений, обогащенных нейротрансмиттерными и антинейротрансмиттерными соединениями.

Растительные клетки могут быть использованы для испытания лекарств, действующих на холинергическую и аминергическую системы млекопитающих.



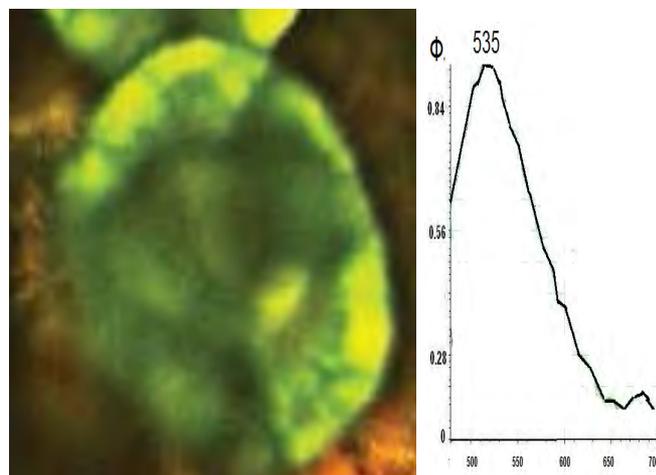
Автофлуоресценция растительных клеток

Лаборатория микроспектрального анализа клеток и клеточных систем ИБК РАН

Рощина В.В., Яшин В.А., Мельникова Е.В., Яшина А.В., Кучин А.В., Гольтяев М.В., Карнаухов В.Н.



Разработка В.Н.Карнауховым с сотрудниками микроспектрофлуориметров в 70-80-х годах двадцатого века открыла возможности исследования прижизненной флуоресценции различных клеток. За последние тридцать лет в его лаборатории с помощью этих приборов и лазер-сканирующей конфокальной микроскопии исследованы десятки типов клеток, и совершенно новые данные получены впервые для секретирующих растительных клеток (пыльцы, вегетативных микроспор хвощей и папортников. специализированных секретур голосеменных и покрытосеменных растений). Для них получены спектры автофлуоресценции позволяющие судить о присутствии определенных химических соединений

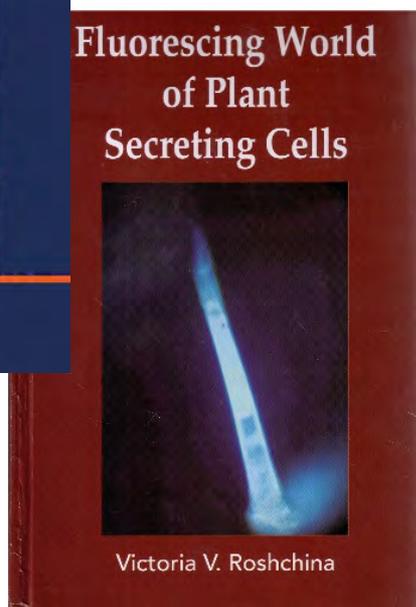
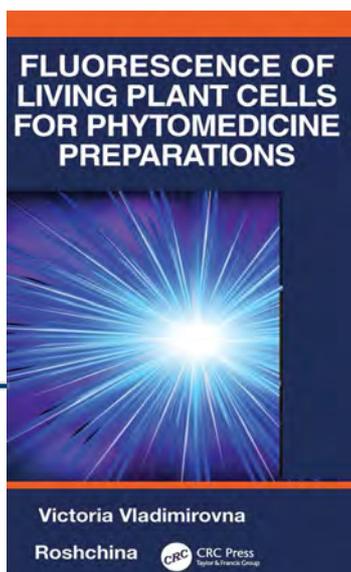


Флуоресцирующая железа лекарственного сырья хмеля и ее спектр флуоресценции

Было исследовано влияние различных абиотических факторов (тропосферного озона, ультрафиолетовой радиации, засоления среды и др.) на изменение состава клеточных соединений, базируясь на изменения в спектрах автофлуоресценции неповрежденных интактных клеток. Это сделало возможным определить ряд чувствительных систем клеток, которые могут служить индикаторами повреждения или нарушения развития клеток.

Особое место этот подход занял в фармакологии лекарственного растительного сырья. Впервые возможное применение автофлуоресценции интактных растительных клеток проанализировано в ряде монографий.

Предложено использовать модельные растительные системы для индикации состояния окружающей среды при стрессах и для анализа фармацевтического сырья.



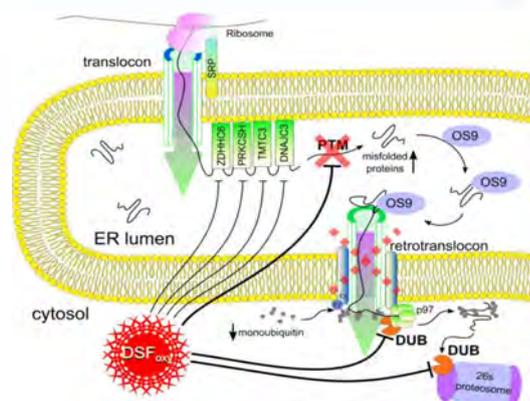
Витамин В12b усиливает цитотоксичность диэтилдитиокарбамата, вызывая неапоптотическую программируемую гибель клеток

Лаб. тканевой инженерии ИТЭБ РАН
Лаб. фарм. регуляции клеточной резистентности ИТЭБ РАН

Соловьева М., Шаталин Ю., Одиноква И., Крестинина О., Бабурина Ю., Холмухамедов Э., Ломовская Я., Акатов В.

Установлено, что гидроксикобаламин (витамин В12b) в сочетании с аскорбиновой кислотой и тиоловыми антиоксидантами GSH, NAC и DTT катализирует образование и накопление перекиси водорода в среде, вызывая разрывы ДНК, повреждение лизосом и апоптотическую гибель клеток.

В12b катализирует окисление диэтилдитиокарбамата (DDC), что ведет к образованию дисульфирама, его сульфонов и сульфоксидов (DSFoxy), и синергически усиливает цитотоксическое действие DDC на опухолевые клетки человека.



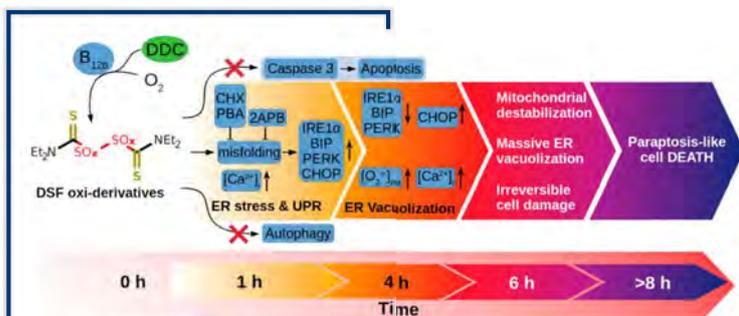
Ключевым моментом является подавление UPS (убиквитин-протеасомальной системы), опосредованное повреждением деубикитиназы (DUB), с последующим ингибированием ретротранслокации белков через мембрану ЭПР в цитозоль, накоплением неправильно свернутых белков в ЭПР и инициацией паратозоподобной гибели клеток

Предполагаемый механизм цитотоксического действия DSFoxy

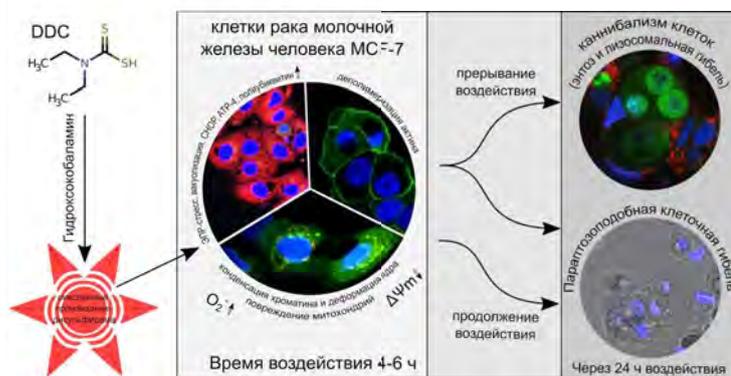
Применение DSFoxy вызвало unfolded protein response (UPR), расслоение мембран ЭПР и клеточных ядер и образование цитоплазматических и перинуклеарных вакуолей с множеством волокон внутри, появление белков-маркеров стресса ЭПР и повреждение митохондрий, ингибирование протеасомы и деполимеризацию актина. 6–48-ч воздействие DSFoxy приводило к паратозоподобной гибели 75–100% популяции клеток HEP-2, A549, A431, HT29, HT1080 и BT474; 6-ч воздействие на клетки MCF-7 вызывало паратоз и энтоз.

DSFoxy ингибируют апоптоз и аутофагию, окисляя и повреждая соответствующие белки, нарушают синтез и фолдинг белков, а также ретроградный транспорт незрелых белков из ЭПР в цитоплазму.

Способы инициация паратозоподобной гибели и взаимного уничтожения раковых клеток представляет интерес для терапии онкозаболеваний в случае их устойчивости к апоптоз-индуцирующим агентам.



Инициация паратоза в клетках HEP-2



Инициация энтоза и паратоза в клетках MCF-7 сульфопроизводными DSF в зависимости от времени инкубации

Внутриклеточные события при инициации неапоптотической гибели опухолевых клеток комбинацией DDC + В12b

Митохондриальная дисфункция при сахарном диабете

Лаборатория Митохондриального транспорта
Старинец В.С., Серов Д.А., Белослудцева Н.В., Таланов Е.Ю.,
Ильзоркина А.И., Белослудцев К.Н.

Развитие сахарного диабета 2-го типа (СД2) у мышей C57BL/6 (Рис.1) приводит к структурным повреждениям митохондрий, снижению синтеза АТФ, гиперпродукции АФК и повышению восприимчивости органелл к открыванию Ca^{2+} -зависимой поры (mPTP), что может повлечь за собой активацию клеточной гибели.

Митохондрии сердечной и скелетной мускулатуры оказались наиболее восприимчивыми к индукции mPTP, по сравнению с митохондриями других органов и тканей диабетических животных.

В этих тканях наблюдалось нарушение системы “контроля качества” митохондрий (митофагии и биогенеза) и процессов митохондриальной динамики (деления и слияния), что приводило к накоплению дефектов в митохондриальной сети.

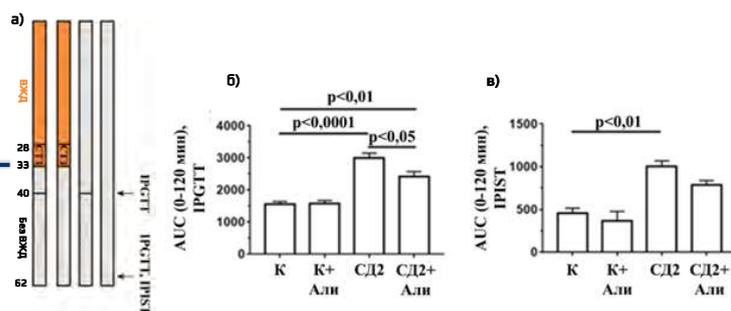


Рис. 1 – Моделирование СД2 у мышей C57BL/6 с помощью высоко-жировой диеты (ВЖД; “Envigo”, USA); (а) схема эксперимента; (б) параметр общей площади под кривой (AUC) для теста на толерантность к глюкозе (IPGTT); (в) параметр AUC для теста на толерантность к инсулину (IPGTT).

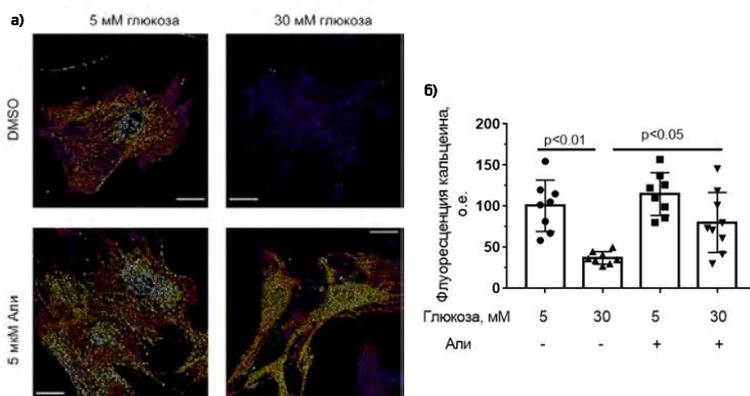


Рис. 2 – Влияние алиспоривира (Али) на образование mPTP в митохондриях эндотелиоцитов легких мышей при гипергликемии. (а) Типичные фотографии флуоресценции митохондриального кальцеина в присутствии $CoCl_2$ в экспериментальных группах. Шкала – 40 мкм. (б) Интенсивность флуоресценции кальцеина.

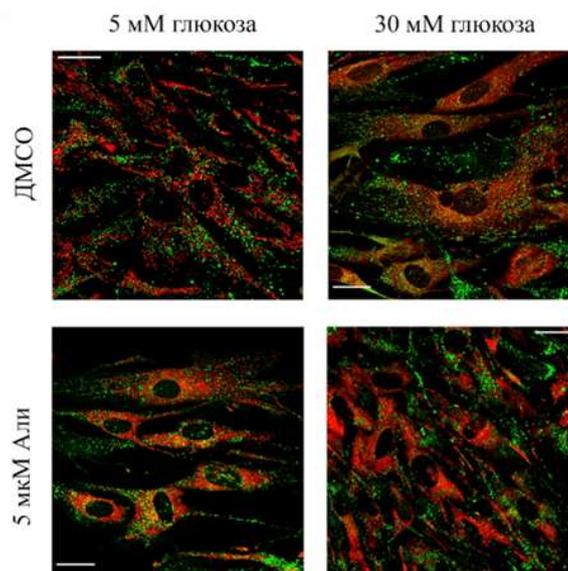


Рис. 3 – Алиспоривир (Али) нормализует митофагию при гипергликемии. Степень ко-локализации митохондрий и лизосом в эндотелиоцитах легких мышей определяли с помощью двойного окрашивания клеток MitoTracker Deep Red FM и LysoTracker Green.

Терапия с помощью высокоселективного mPTP блокатора нового поколения алиспоривира, не оказывающего иммуносупрессивного действия в отличие от его аналогов, облегчала течение диабета (Рис.1) и нормализовала функционирование митохондрий (Рис.2).

В экспериментах на культуре клеток в условиях гипергликемии, алиспоривир подавлял образование mPTP в митохондриях (Рис.2), предотвращал падение митохондриального мембранного потенциала и развитие окислительного стресса, а также снижал степень ко-локализации митохондрий с лизосомами (т.е., митофагию, Рис.3), что в конечном итоге, восстанавливало жизнеспособность клеток.

В экспериментах *in vivo* на диабетических мышах и при моделировании гипергликемии *in vitro* в клеточной культуре, блокирование mPTP с помощью алиспоривира оказывало антигликемический эффект и существенно подавляло развитие митохондриальной дисфункции, что подтверждает участие данной поры в механизмах патогенеза СД2 и позволяет рассматривать ингибиторы mPTP в качестве потенциальных средств для комплексной терапии диабета.

Автостоп: транслокация комплексов флавоноидов с металлами в клетку

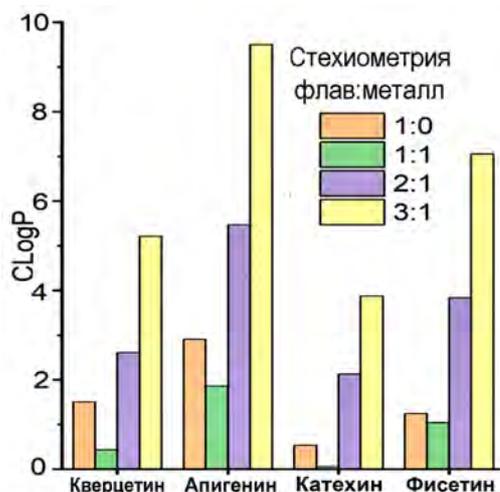
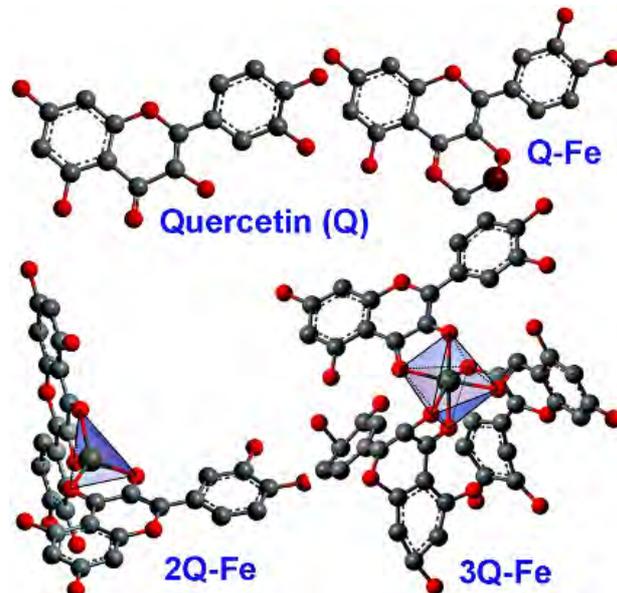
Лаборатория механизмов организации биоструктур, ИТЭБ РАН

Ю.С. Тараховский

Флавоноиды - это группа полифенолов, которые поступают в организм человека с растительной пищей. В последние годы эти вещества привлекают внимание исследователей, как эффективные агенты в профилактике широкого спектра заболеваний

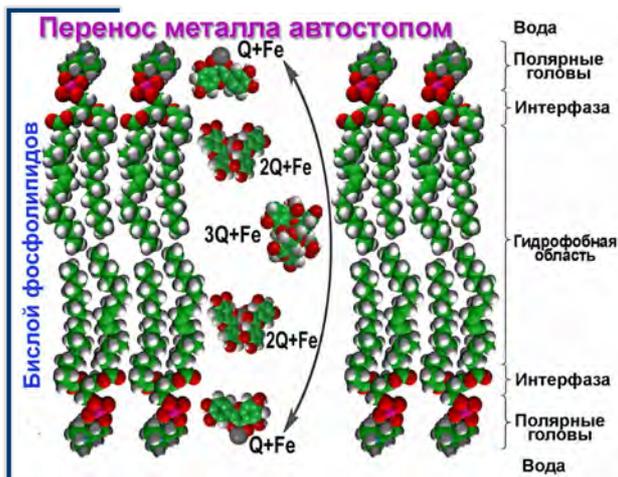
Аналогичное терапевтическое действие могут оказывать также некоторые переходные металлы первого ряда, включая Cu(II), Zn(II), Mn(II), Fe(II/III).

Примечательно, что флавоноиды известны как хелаторы указанных переходных металлов. При образовании комплексов флавоноидов с этими металлами, терапевтический эффект может возрастать, что предполагает возможность синергизма.



Анализ молекулярных моделей показал, что липофильность комплексов флавоноид-металл при изменении стехиометрии связывания сначала падает, а затем растет в ряду (1:0) > (1:1) < (1:2) < (1:3)

На основании представленных расчетов предложена оригинальная гипотеза о существовании уникального процесса транслокации комплексов флавоноид-металл различной стехиометрии через клеточные мембраны в цитоплазму, который основан на возможности их последовательной ассоциации и диссоциации в различной стехиометрии, названный "автостопом"



Ожидается, что исследования биологических свойств комплексов флавоноидов с металлами позволят повысить их биодоступность и терапевтическую эффективность. Опубликовано: *Biometals*, 2022, xx.

Микроструктурирование и фоторецепторные свойства прозрачных растворов аминокислот

Лаборатория структуры и динамики биомолекулярных систем ИБК РАН

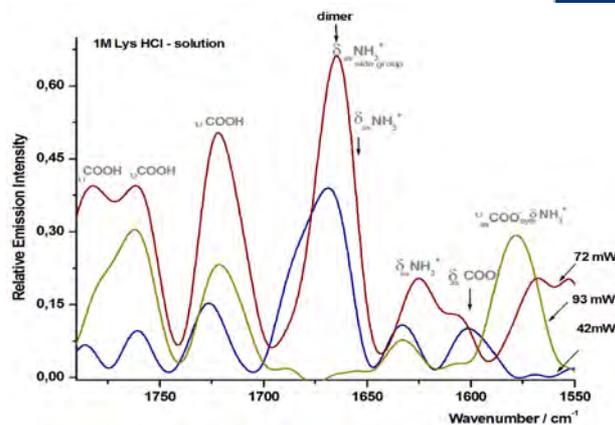
Е.Л. Терпугов, М.С. Кондратьев, О.В. Дегтярева



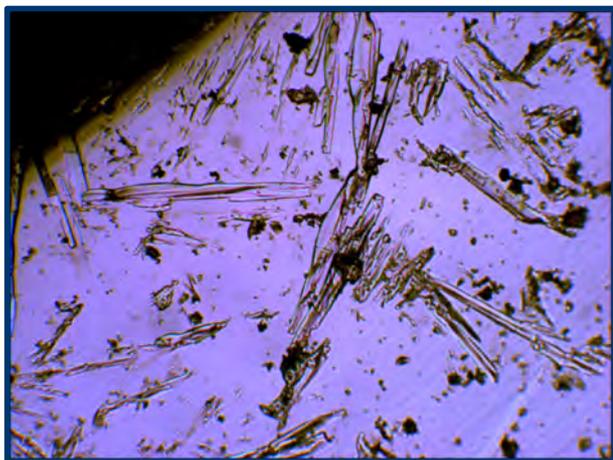
В результате исследований различной сложности биообъектов разработанным в лаборатории на базе ИК-Фурье техники методом ИК-эмиссионной спектроскопии было продемонстрировано, что генерация вторичного ИК-излучения среднего ИК-диапазона является общим явлением при взаимодействии биообъектов с видимым светом.

Фоторецепторные свойства выявлены не только у окрашенных, но также у биоструктур, не имеющих в своем составе хромофора. Последующие эксперименты показали, что свет инициирует микроструктурирование водной среды.

Исследования были проведены на бактериородопсине, коллагене, липидах, тканях растений, неароматических аминокислотах (глицин, лизин, аргинин и др.) в твердом и жидком состоянии.



Экспериментальное подтверждение того, что видимый свет инициирует образование водородо-связанных структур



Экспериментальное свидетельство светоиндуцированного образования зародышей кристаллов в 1 М растворе глицина, которые превращаются в кристаллы после высушивания растворов при комнатной температуре



Визуализация микроструктурирования прозрачной среды с неароматическими аминокислотами за счет гигантского молекулярного рассеяния и аутофлуоресценции – самого загадочного явления последнего времени

Неароматические аминокислоты демонстрируют зависимость от возбуждающего света аутофлуоресценцию, физическая природа которой в настоящее время еще не известна.

Фоточувствительность неароматических аминокислот переворачивает представление о флуоресценции биомолекул.

Хотя физическое происхождение этих эффектов неизвестна, полученные экспериментальные данные указывают на то, что ключевую роль в них могут играть водородные связи и образованные ими микроструктуры.

Раскрытие природы этих явлений позволит переосмыслить механизм взаимодействия света с биообъектами.

Явление ИК-эмиссии и аутофлуоресценции в лишенных хромофора биоструктурах имеет огромный потенциал в биофотонике и разработке новых оптически активных биоматериалов для применения в биосенсорах и визуализации.

Технология газовой консервации сердца



Лаборатория криобиологии и биофизики воды ИБК РАН
ФИЦ ПНЦБИ

Фесенко Е.Е., Швирст Н.Э., Гагаринский Е.Л., Шишова Н.В., Пеньков Н.В.,
Гольяев М.В., Каурова С.А., Уграицкая С.В.

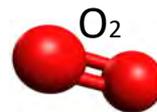
Количество пациентов, ожидающих пересадку сердца в 4-5 раз превышает количество выполняемых операций. Максимальный срок гипотермической консервации сердца равный 6 часам делает невозможным дальнюю транспортировку органа.

Разработанная технология газовой консервации базируется на использовании биологически активных газов CO и O₂.

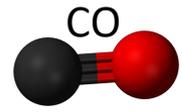
Молекулы CO и O₂ играют важную роль в регуляции различных физиологических и патологических реакций и способны влиять на метаболизм как при физиологической температуре, так и при гипотермии.



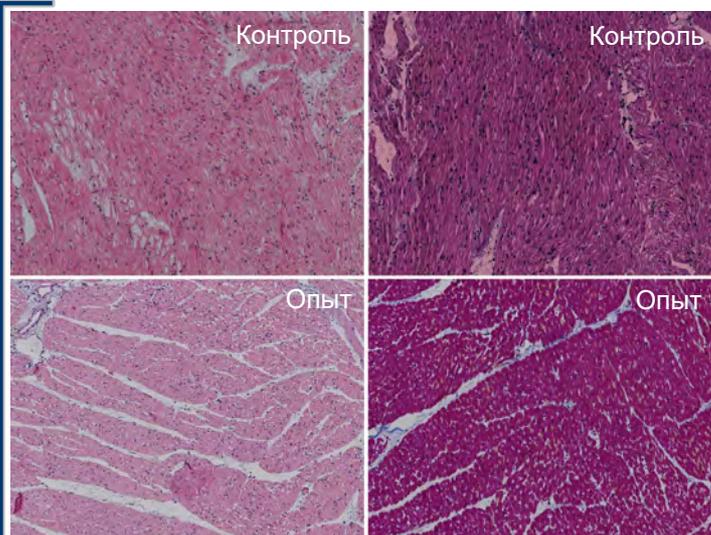
Количество трансплантаций сердца в 2018 году (по данным сайта <https://rustransplant.com/>)



Воспалительная реакция ↓
Окислительный стресс ↓
Ишемические повреждения ↓



Апоптоз ↓
Высвобождение цитокинов ↓
Восстановление функций ↑



Гистологическая картина сердца барана, в норме и после применения технологии газовой консервации (срок хранения 24ч.)

Исследования проводились на самцах крыс линии Wistar, мини-свиней и баранов романовской породы.

Технология газовой консервации обеспечивает высокий уровень сохранности миокарда. Достигнутый срок хранения (24 ч) в четыре раза превышает максимально разрешенные сроки стандартной холодильной консервации в консервирующих растворах. Полученные результаты на модели сердца крупного лабораторного животного подтверждают перспективность предлагаемого подхода для пролонгации хранения сердца человека.

Использование технологии газовой консервации позволит увеличить пул донорских органов, оптимизировать логистику, и повысить безопасность трансплантаций

Исследование выполнено при поддержке
Фонда перспективных исследований



Применение антиоксидантных ферментов в лечении патологий вызванных окислительным стрессом

Лаборатория механизмов рецепции ИБК РАН
Шарапов М.Г., Гончаров Р.Г., Гордеева А.Е., Фесенко Е.Е., Новоселов В.И.

Пероксиредоксины (Prx) – эволюционно древнее семейство тиол-зависимых пероксидаз, которое широко представлено в живом мире (от бактерий до человека).

Отличительной чертой Prx является их способность нейтрализовать широкий спектр неорганических и органических гидропероксидов, благодаря чему они играют важную роль в поддержании редокс-гомеостаза клетки.

Кроме пероксидазной активности, пероксиредоксины проявляют шаперонную, фосфолипазную и сигнально-регуляторную функцию, тем самым оказывая влияния на многие клеточные процессы.

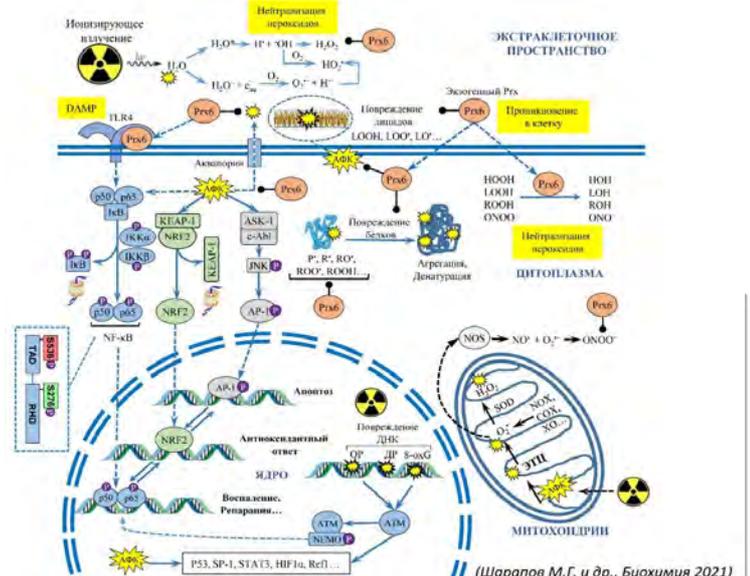
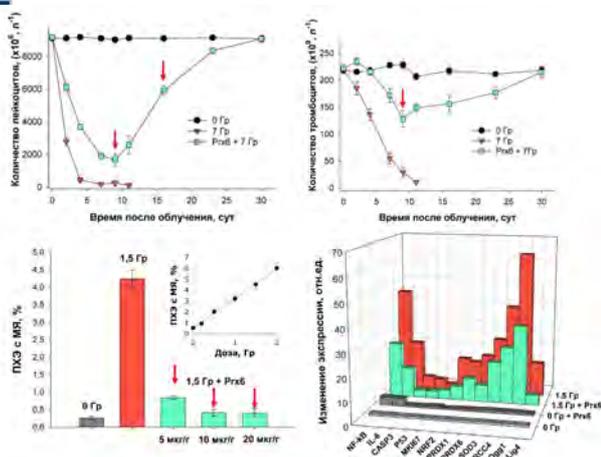
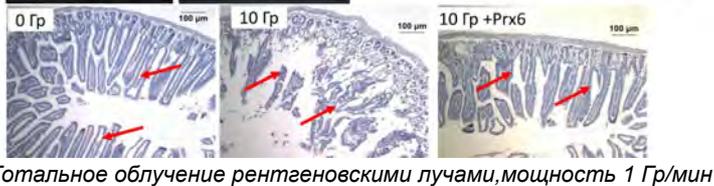
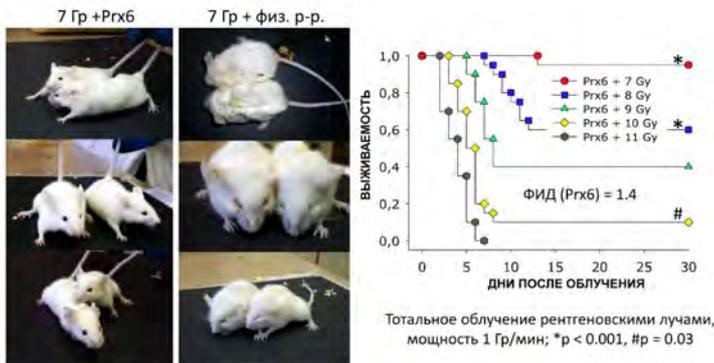


Схема радиозащитного действия экзогенного Prx6 (Шарапов М.Г. и др., Биохимия 2021)

У млекопитающих обнаружено 6 представителей семейства пероксиредоксинов (Prx1–Prx6). В лаборатории Механизмов рецепции ИБК РАН впервые был обнаружен Prx6 в обонятельном эпителии и респираторном тракте крысы (Novoselov V.I., 1998). В настоящее время исследование роли Prx1-6 в регуляции редокс-гомеостаза клетки как в норме, так и при патологических состояниях является предметом наших исследований. Впервые получены рекомбинантные изоформы Prx1-6 человека и их модификации, с улучшенными характеристиками.

Показана высокая терапевтическая активность рекомбинантных пероксиредоксинов при различных свободнорадикальных патологиях: острая лучевая болезнь, ишемически-реперфузионные поражения внутренних органов (сердце, почки, кишечник), поражения (механические, термические, химические) эпителиальных тканей и др.

Рекомбинантные пероксиредоксины и их модифицированные формы могут стать основой для создания перспективных препаратов для эффективной терапии заболеваний, связанных с окислительным стрессом.



Исследование радиозащитного действия экзогенных пероксиредоксинов на модели тотального облучения мышей ионизирующим излучением

Взаимодействие кобаламинов с серосодержащими соединениями

Лаборатория тканевой инженерии ИТЭБ РАН
Шаталин Ю.В., Шубина В.С., Соловьева М.Е., Акатов В.С.

Витамин В12, или кобаламин, представляет собой водо-растворимый витамин, присутствие которого в рационе человека необходимо для нормального функционирования клеток.

Кобаламины могут как подавлять, так и стимулировать окислительный стресс; однако механизмы, лежащие в основе этих эффектов, на данный момент малоизучены. Нами было показано, что окисление тиолов, катализируемое кобаламинами сопровождается продукцией активных форм кислорода и индуцирует, в определенных условиях, окислительный стресс и гибель клеток (рис.1).

Предложены механизмы окисления тиолов аква- и цианокобаламином (рис.2), а также механизм окисления диэтилдитиокарбамата аква-гидрокобаламином (рис.3).

Установлено, что комбинация серосодержащих соединений с кобаламинами приводит к индукции различных типов клеточной гибели, включая апоптоз, энтоз и параптоз.

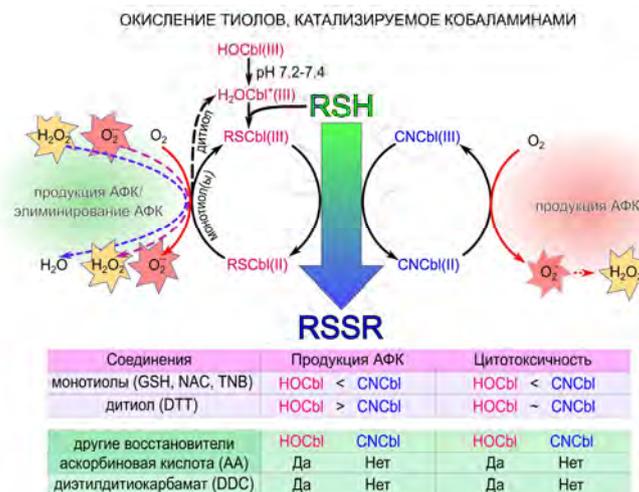


Рис. 1. Графическое представление полученных результатов
Рисунок адаптирован из Shatalin, Shubina et al., Int. J. Mol. Sci. 2022, 23, 11032.

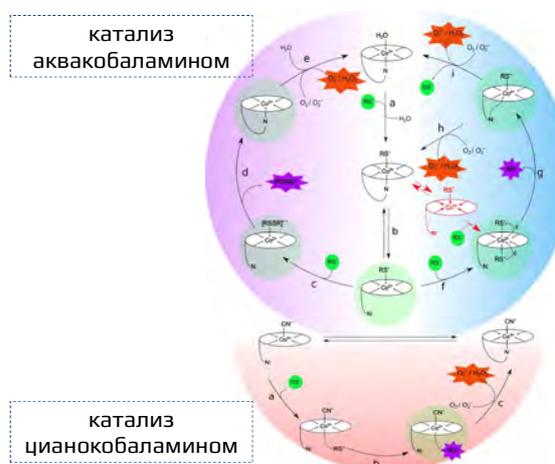


Рис 2. Предположительный механизм окисления тиолов
Рисунок адаптирован из Shatalin, Shubina et al., Int. J. Mol. Sci. 2022, 23, 11032.

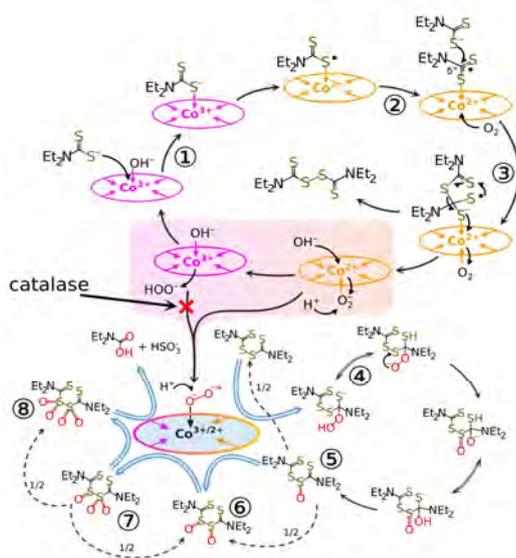


Рис 3. Схема окисления диэтилдитиокарбамата в присутствии гидрокобаламина.
Рисунок адаптирован из Solovieva, Shatalin et al., Redox Biology. 2019, 20, 28–37.

Полученные данные позволяют лучше понять отличия в окислительно-восстановительных процессах, в которых участвуют различные формы кобаламинов, а также могут быть полезны для разработки новых подходов для лечения некоторых кобаламин-зависимых расстройств, важным компонентом которых является окислительный стресс.

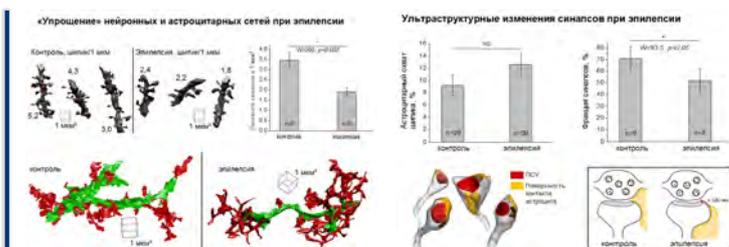
3D-анализ ультраструктуры нейрон – глиального взаимодействия

Лаборатория методов электронной микроскопии ИБК РАН

Шишкова Е.А., Рогачевский В.В.

Наработан многолетний опыт анализа ультраструктуры синапсов и их глиального окружения в норме, в природных и экспериментальных моделях функциональной пластичности и развития патологии мозга. Внедряются автоматизированные методы анализа на основе машинного зрения и искусственного интеллекта.

В исследованиях гиппокампа в SE (хронической Li⁺-пилокарпиновой модели эпилепсии) показано снижение числа синапсов с увеличением их размеров наряду со снижением астроцитарной изоляции активных зон.



Трехчастные синапсы гиппокампа в модельной эпилепсии

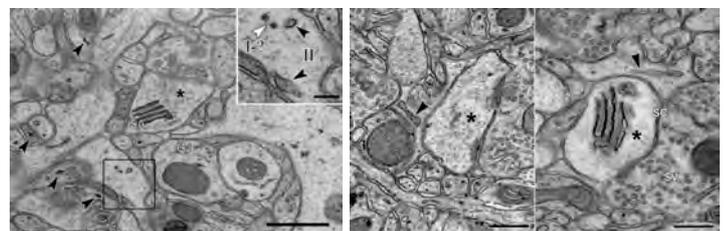
Это «упрощение» астроцитарной сети при эпилепсии сходно с таковым во II/III слое (L2-3) коры мозга, по сравнению с слоем I (L1). При этом известно, что пирамидные нейроны L2-3 потенциально способны к эпилептиформной активности при растормаживании интернейронов в L1, что позволяет использовать структурно-функциональные особенности верхних слоев коры в качестве природной клеточной модели развития эпилепсии.



Астроцитарные сети 1 и 2-3 слоев коры мозга

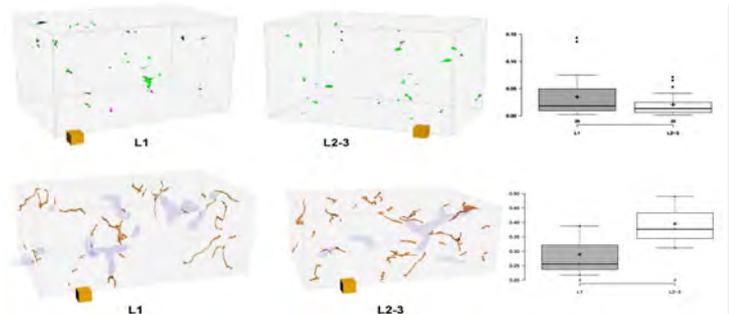
Запуск такой активности опосредован локальными связями интернейронов, а обеспечение их метаболических потребностей связано с их глиальным окружением и депо ионов Ca²⁺ в отростках астроцитов.

Снижение Ca²⁺-событий в отростках астроцитов в SE может быть связано с низким буфером Ca²⁺ гладкого ретикулума (sER) и/или с нарушением передачи волны Ca²⁺ посредством щелевых контактов (GJs). Для анализа GJs необходимо высокое разрешение, а для sER в перисинаптических отростках астроцитов (PAPs) – специальные методы его выявления.



Субкомпарменты sER в PAPs астроцитов

Мы разработали оригинальные методы окраски sER (Biophysics, 2022, 67(5):752-760), что позволило количественно оценить GJs и sER в астроцитарных сетях в L1 и L2-3 коры. Площадь GJs в L1 в пересчете на объем астроцита в 2 раза превышала значения в L2-3. Зеркальные отношения были получены для объема sER: в L2-3 суммарный объем цистерн sER в пересчете на объем астроцитарных отростков в ткани в 2 раза превышал значения в L1. При этом в SE мы наблюдаем 2-кратное увеличение площади отдельного GJ на фоне снижения Ca²⁺-событий.



3D-анализ GJs и sER астроцитов

Полученные результаты позволяют предполагать существование в норме баланса между буфером ионов Ca²⁺ (sER) и GJs, нарушение которого могло бы способствовать развитию судорожных состояний.

Неинвазивная диагностика почечно-клеточного рака с применением сверхчувствительного иммуноанализа раково-сетчаточных антигенов



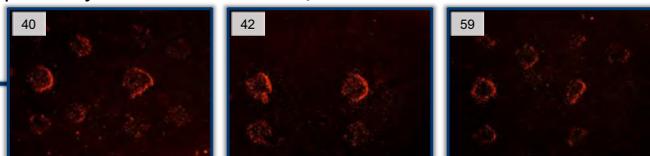
Лаборатория наноструктур и нанотехнологий ИТЭБ РАН

Шляпников Ю.М., Малахова Е.А., Винаров А.Э., Замятнин А.А., Шляпникова Е.А.

Предложены новые неинвазивные биомаркеры почечно-клеточного рака (ПКР) - агрессивного урологического онкозаболевания с высоким уровнем смертности. Для поиска новых биомаркеров в жидкой биопсии разработан более чувствительный, чем общепринятые, способ иммуноанализа на микрочипах с детекцией магнитными частицами с пределом обнаружения 0,1 пг/мл.

В качестве потенциальных мочевых биомаркеров ПКР использовали раково-сетчаточные антигены: аррестин, рековерин, родопсинкиназу и трансдуцин.

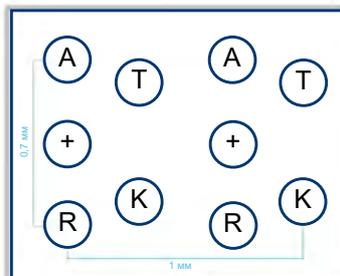
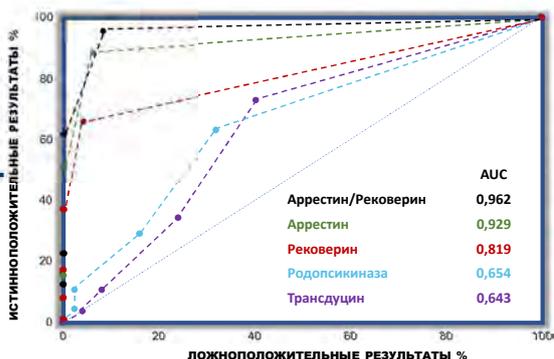
Примеры иммуноанализа мочи пациентов с ПКР



Контрольная группа

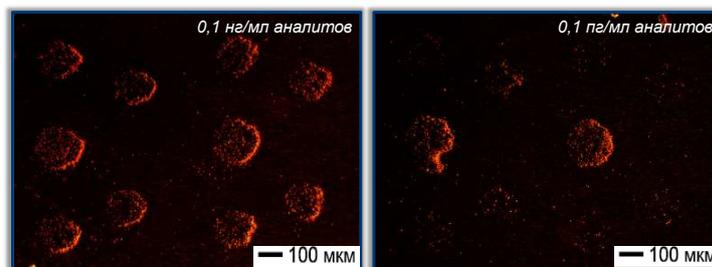


ROC-кривые для обнаружения в моче четырех отдельных антигенов и комбинации аррестина и рековерина.



Дизайн микрочипа

Зоны антител специфичных к
 A - аррестину
 R - рековерину
 K - родопсинкиназе
 T - трансдуцину
 + - положительный контроль рекомбинантный рековерин



Изображения микрочипов, полученные при одновременном иммуноанализе каждого из четырех анализов

Исследованы образцы мочи 89 больных с ПКР и 50 пациентов контрольной группы без онкозаболеваний. Результаты показали высокую диагностическую эффективность комбинации аррестина с рековерином: при пороге 0,1 пг/мл чувствительность составила 96%, специфичность 92%, а AUC = 0,96 (95% доверительный интервал 0,93-0,99). Через семь дней после удаления опухоли концентрации антигенов вернулись к уровню, характерному для контрольной группы.

Таким образом, комбинация аррестина с рековерином может служить как диагностическим, так и предиктивным неинвазивным мочевым биомаркером ПКР.

Антиоксидантные свойства полифенольных соединений

Лаборатория тканевой инженерии ИТЭБ РАН

Шубина В.С., Козина В.И., Шаталин Ю.В.

В процессе хранения, созревания и переваривания продуктов питания и напитков с высоким содержанием флавоноидов, последние могут реагировать с токсичными карбонильными соединениями. Однако, влияние данных реакций на антиоксидантные свойства полифенольной фракции и свойства формирующихся продуктов реакции остаются малоизученными.

В работе были исследованы антиоксидантные свойства шести структурно близких флавоноидов (кверцетина, таксифолина, катехина, эриодиктиола, нарингенина и гесперетина) и продукта конденсации таксифолина и глиоксалевой кислоты (рис. 1), а также выявлена взаимосвязь структура-активность данных соединений. Полученные результаты суммированы на рисунке (рис. 2).

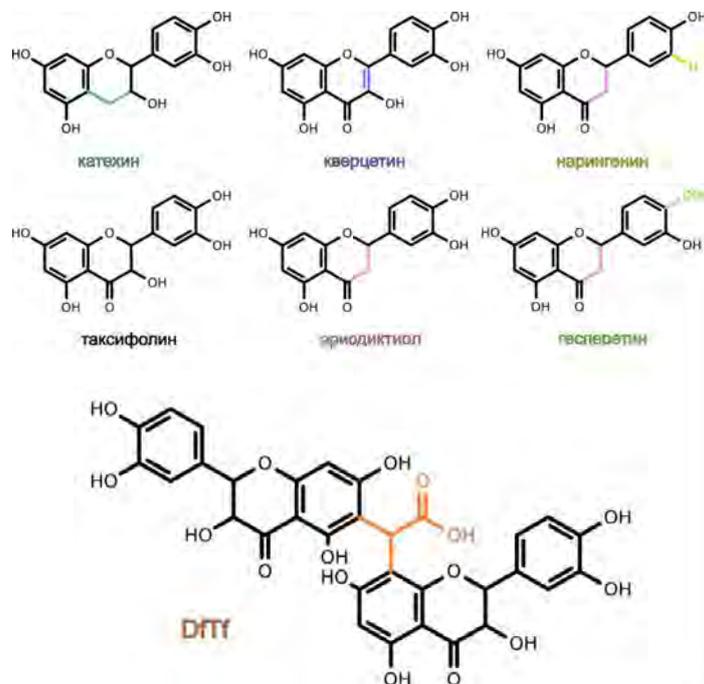


Рис 1. Структуры исследуемых полифенолов. Продукт конденсации таксифолина и глиоксалевой кислоты обозначен DFTf.

Таким образом, реакции конденсации флавоноидов с токсичными карбонильными соединениями могут приводить к формированию продуктов, проявляющих высокую антиоксидантную активность. Свойства исходных флавоноидов и продуктов, как и условия, в которых они оказывают наиболее эффективное действие, могут отличаться.

Данные свидетельствуют о том, что антиоксидантный профиль полифенольной фракции, а также биодоступность полифенолов, карбонильных соединений и ионов металлов может меняться, когда протекают данные реакции.

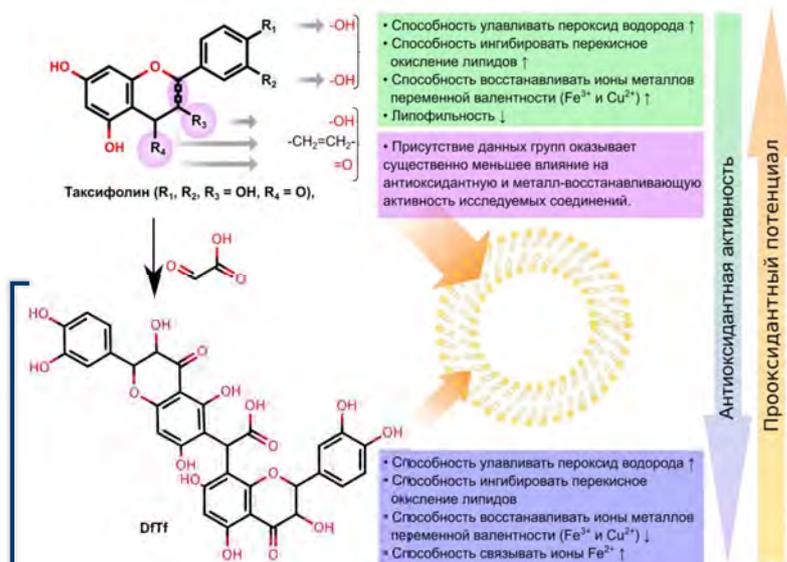


Рис 2. Взаимосвязь структура-антиоксидантная активность исследуемых соединений.

Рисунки адаптированы из Shubina et al. Antioxidants 2021, 10(8), 1262.

СОДЕРЖАНИЕ

Алилова Г.А., Тихонова Л.А., Косенко Е.А. Новые механизмы возникновения нейропатологии и способы ее коррекции.....	3
Аникина В.А., Попова Н.Р., Сорокина С.С., Замятина Е.А., Шемяков А.Е. Разработка модели протон-индуцированного дерматита <i>in vivo</i>	4
Афанасьева В.А., Ермаков А.М. Антимикробный потенциал синергетического действия холодной газовой плазмы и наночастиц соединений церия и вольфрама	5
Гапеев А.Б., Лукьянова Н.А., Пашовкин Т.Н. Защитное действие КВЧ-излучения от ионизирующей радиации и повреждающих концентраций химических агентов	6
Глушкова О.В., Лунин С.М., Хренов М.О., Парфенюк С.Б., Новоселова Т.В., Мубаракшина Э.К., Кузеква А.А., Новоселова Е.Г. Сенолитические стратегии лечения заболеваний, ассоциированных с возрастом	7
Грабарская М.А., С.С. Попова, Г.З. Михайлова, Захарова Н.М., Вихлянцев И.М. Роль Rbm20 в регуляции сплайсинга титина в миокарде суслика	8
Гриневич А.А., Дюкина А.Р., Сафронова В.Г., Серов Д.А., Танканаг А.В., Тихонова И.В., Чемерис Н.К. Оценка патологических нарушений взаимосвязей между регуляторными процессами в сердечно-сосудистой системе на организменном и молекулярно-клеточном уровнях.....	9
Дымова Е.А., Лямин О.О., Котова П.Д., Колесников С.С. Ингибитор PI3K и mTOR Vohxtalisib нарушает сопряжение мускаринового рецептора M3 с мобилизацией Ca ²⁺	10
Жданова Е.А., Ермаков А.М. Изучение влияния микробиоты кишечника на развитие эпилепсии	11
Жуйкова Н.С. Михеева И.Б., Михайлова Г.З., Штанчаев Р.Ш., Павлик Л.Л. Ультратраструктурное изучение и 3D моделирование клеточных структур мозга	12
Заичкина С.И., Дюкина А.Р., Сорокина С.С., Шемяков А.Е., Розанова О.М., Смирнова Е.Н., Ларюшкин Д.П., Поцелуева М.М. Активация резерва естественной защиты организма	13
Заичкина С.И., Розанова О.М., Смирнова Е.Н., Сорокина С.С., Шемяков А.Е. Влияние облучаемого объема карциномы на рост опухоли и отдаленные эффекты у мышей.....	14
Захарова Н.М., Тараховский Ю.С., Фадеева И.С., Камелина Н.П., Хренов М.О., Глушкова О.В., Семенов В.С., Кукушкин Н.И., Прохоров Д.А., Кутышенко В.П., Ковтун А.Л. Разработка технологий спасения при угрозе терминальных состояний ..	15
Зинченко В.П., Гайдин С.Г., Теплов И.Ю., Косенков А.М., Долгачева Л.П. Выявление и свойства ГАМКергических нейронов, экспрессирующих кальций-проницаемые каинатные рецепторы	16
Зырина Н.В., Антипова В.А., Ревезук З.В. Синтез ДНК <i>ab initio</i> , стимулируемый никотином эндонуклеазами	17
Каранова М.В., Гагаринский Е.Л., Фесенко Е.Е., Ивличева Н.А., Андреев А.А., Захарова Н.М. Адаптация к низким температурам и эволюция	18
Ким А.Л., Мусин Е.В., Дубровский А.В., Тихоненко С.А. Ферментативная диагностическая система многократного применения.....	19
Колотова А.А., Фадеев Р.С., Ермаков А.М. Анализ транскриптомного профиля лейкоцитов для диагностических и прогностических целей.....	20
Комаров В.М., Самченко А.А., Кондратьев М.С. «Скрытый» структурный полиморфизм Уотсон–Криковских пар и функциональная организация геномной ДНК.....	21
Кондратьев М.С., Самченко А.А., Комаров В.М., Хечинашвили Н.Н. Экдизоновый рецептор насекомых-вредителей как мишень для фармакофорного поиска новых инсектицидов.....	22
Кочкина Е.Н., Рогачевская О.А., Копылова Е.Е., Колесников С.С. Роль различных изоформ IP ₃ -рецептора в агонист-индуцированной Ca ²⁺ -сигнализации.....	23

<i>Кузнецова Е.А., Розанова О.М., Смирнова Е.Н., Абдуллаев С.А., Заичкина С.И., Сирота Н.П.</i> Индукция повреждений ДНК в клетках системы крови у мышей, подвергнутых воздействию редко- и плотноионизирующих излучений, и у их потомков.....	24
<i>Куликов А.В., Архипова Л.В., Гаврилюк В.Б., Руднев В.Р., Куликова Л.И.</i> Трансплантологические способы компенсации патологических состояний	25
<i>Маевский Е.И., Гришина Е.В., Кожурин М.В., Розенфельд А.С.</i> Сукцинат – враг и друг ..	26
<i>Мосенцов А.А., Белослудцева Н.В., Хмиль Н.В., Хундрякова Н.В., Миронова Г.Д.</i> Новый подход для предупреждения и лечения болезни Паркинсона	27
<i>Пашовкин Т.Н., Хижняк Е.П.</i> Новый метод контрастирования в ультразвуковой диагностике.....	28
<i>Першина Е.В., Черноморец И.Ю., Фёдоров Д.А., Жуйкова Н.С., Архипов В.И.</i> Метабо-тропные рецепторы глутамата – мишени для защиты мозга при экспериментальной нейродегенерации гиппокампа крыс.....	29
<i>Попов А.Л., Абакумов М.А., Савинцева И.В., Ермаков А.М., Попова Н.Р., Иванова О.С., Колманович Д.Д., Баранчиков А.Е., Иванов В.К.</i> Наночастицы SeO_2 с гадолинием, в качестве контрастного агента для МРТ	30
<i>Попов А.Л., Попова Н.Р., Шербаков А.Б., Сухоруков Г.Б., Иванов В.К.</i> Система доставки БАВ на основе SeO_2 -функционализированных ПМК.....	31
<i>Прохоров Д.А., Азев В.Н., Микулинская Г.В., Чулин А.Н., Молчанов М.В., Уверский В.Н., Кутышенко В.П.</i> Эндолизины бактериофагов как антибактериальные средства.....	32
<i>Рощина В.В.</i> Нейротрансммиттеры (биомедиаторы) в растительной клетке	33
<i>Рощина В.В., Яшин В.А., Мельникова Е.В., Яшина А.В., Кучин А.В., Гольтяев М.В., Карнаухов В.Н.</i> Автофлуоресценция растительных клеток.....	34
<i>Соловьева М., Шаталин Ю., Одиноква И., Крестинина О., Бабурина Ю., Холмухамедов Э., Ломовская Я., Акатов В.</i> Витамин B12b усиливает цитотоксичность диэтилдитиокарбамата, вызывая неапоптотическую программируемую гибель клеток.....	35
<i>Старинец В.С., Серов Д.А., Белослудцева Н.В., Таланов Е.Ю., Ильзоркина А.И., Белослудцев К.Н.</i> Митохондриальная дисфункция при сахарном диабете.....	36
<i>Тараховский Ю.С.</i> Автостоп: транслокация комплексов флавоноидов с металлами в клетку	37
<i>Терпугов Е.Л., Кондратьев М.С., Дегтярева О.В.</i> Микроструктурирование и фоторецепторные свойства прозрачных растворов аминокислот	38
<i>Фесенко Е.Е., Швирст Н.Э., Гагаринский Е.Л., Шишова Н.В. Пеньков Н.В., Гольтяев М.В., Каурова С.А., Уграицкая С.В.</i> Технология газовой консервации сердца	39
<i>Шарапов М.Г., Гончаров Р.Г., Гордеева А.Е., Фесенко Е.Е., Новоселов В.И.</i> Применение антиоксидантных ферментов в лечении патологий, вызванных окислительным стрессом	40
<i>Шаталин Ю.В., Шубина В.С., Соловьева М.Е., Акатов В.С.</i> Взаимодействие кобаламинов с серосодержащими соединениями	41
<i>Шишкова Е.А., Рогачевский В.В.</i> 3D-анализ ультраструктуры нейрон-глиального взаимодействия	42
<i>Шляпников Ю.М., Малахова Е.А., Винаров А.З., Замятнин А.А., Шляпникова Е.А.</i> Неинвазивная диагностика почечно-клеточного рака с применением сверхчувствительного иммуноанализа раково-сетчаточных антигенов	43
<i>Шубина В.С., Козина В.И., Шаталин Ю.В.</i> Антиоксидантные свойства полифенольных соединений	44
Содержание	45

