

Исследование воздействия гипомагнитных условий на эмбриональное развитие японского перепела

Круглов О.С.

аспирант

ГНЦ РФ - ИМБП РАН, Москва, Россия

E-mail: kruglovos@mail.ru

В межпланетном полете и при работе на лунной базе на человека будет действовать фактор, с которым он не встречался при околоземных полетах - межпланетное магнитное поле, которое на несколько порядков ниже привычного геомагнитного. Имеются данные о неблагоприятном биологическом воздействии и не столь низких магнитных полей.

В качестве объекта для исследования был выбран японский перепел как возможный элемент системы биорегенеративного жизнеобеспечения. Магнитная система (кольца Гельмгольца) создавала поле в своем объеме магнитное поле, противоположное по направлению геомагнитному. Ослабление геомагнитного поля в центре системы составляло 80-100 раз.

Яйца перепела в количестве 8 штук находились в кольцах Гельмгольца в специальном инкубаторе, в котором автоматически поддерживалась температура в пределах $+37,5 \pm 1,0$ °С и относительная влажность в пределах 60 – 80%. Эксперимент в гипомагнитных условиях (ГМУ) проводился трижды, а контрольный – дважды.

Яйца инкубировали в ГМУ в течение 4 суток. Было установлено, что все эмбрионы оставались живыми и соответствовали 3-4 суткам развития. Однако у всех без исключения эмбрионов, находившихся в ГМУ, были обнаружены те или иные аномалии в развитии сердечно-сосудистой системы. Например, наличие двух сердец с развитой системой кровеносных сосудов от каждого сердца, отсутствие межпредсердной перегородки, нарушение сосудистого рисунка, наличие анемии нижней части туловища эмбриона и отсутствие сосудов 2-го порядка в нижней части желточного мешка. У одного из эмбрионов была отмечена патология хвостового отдела туловища – расщепление на два.

Таким образом, показано, что нахождение в гипомагнитном поле оказывает неблагоприятное воздействие на развитие эмбриона японского перепела. Гистологические исследования также показали неблагоприятные последствия воздействия ГМУ.

Следует подчеркнуть, что даже возможное существенное сокращение сроков полета благодаря разработке и внедрению принципиально новых энергодвигательных комплексов (ядерных и других) межпланетных кораблей не снимет проблемы воздействия гипомагнитных условий межпланетного пространства и на поверхности Луны и Марса.

Подсекция «Биофизика»

Одним из возможных вариантов решения проблемы является установка на борту межпланетного корабля и лунной базы специальных магнитных систем, создающих аналог геомагнитного поля. Необходимы исследования их возможных режимов работы.

Спектроскопические исследования взаимодействия флуоресцентного наномаркера бенгальского розового с сывороточным альбумином человека*Кулешова А.А. (студент), Власова И.М. (ст. преп., кандидат физ. - мат. наук)**МГУ им. М.В. Ломоносова, Физический факультет, Москва, Россия**E-mail: vlasovairina1979@mail.ru*

В работе представлены результаты исследований флуоресцентно-спектральных характеристик и процессов молекулярной ассоциации флуоресцентного наномаркера семейства флуоресцеина – бенгальского розового – в растворах транспортного белка плазмы крови человека – сывороточного альбумина.

Бенгальский розовый представляет собой тетраидо-тетрахлоро-производную флуоресцеина. В медицинской клинической практике широко используется радиоактивная производная бенгальского розового, в которой стабильные атомы йода замещены радиоактивными. Радиоактивная производная бенгальского розового используется в основном для изучения поглотительно-выделительной функции печени в связи с высоким сродством этого наномаркера к клеткам печени, радиоактивная производная бенгальского розового поглощается исключительно паренхиматозными клетками печени. После внутривенного введения радиоактивная производная бенгальского розового связывается с белками плазмы крови, в основном, с сывороточным альбумином человека.

Сывороточный альбумин человека – глобулярный белок плазмы крови, структурная подвижность его молекулы обеспечивает его взаимодействие с различными как органическими, так и неорганическими лигандами. Данное уникальное свойство молекулы сывороточного альбумина человека – связывание различных лигандов – определяет основную функцию этого белка – транспорт различных веществ (физиологических метаболитов, лекарственных препаратов) в кровотоке.

В связи с одинаковыми химическими свойствами исходного немеченого бенгальского розового с его радиоактивной производной представляет интерес исследовать взаимодействие немеченого бенгальского розового с сывороточным альбумином человека при различных значениях рН по анализу флуоресцентно-спектральных характеристик и процессов молекулярной ассоциации бенгальского розового в растворах данного белка.

В работе исследованы спектры флуоресценции бенгальского розового как в растворах без белка, так и в растворах сывороточного альбумина человека, при различных значениях рН. Обнаружены зависимости интенсивности флуоресценции, положения максимума спектра флуоресценции и квантового выхода флуоресценции наномаркера от рН в растворах сывороточного альбумина человека, определяемые зависимостью эффективности связывания бенгальского розового с альбумином от рН.

По анализу спектров поглощения растворов бенгальского розового, как содержащих белок, так и нет, определены зависимости степени молекулярной ассоциации молекул бенгальского розового и зависимости угла между ассоциированными молекулами бенгальского розового в растворах сывороточного альбумина человека от рН.

По спектрам флуоресценции бенгальского розового в растворах с различными концентрациями сывороточного альбумина человека по теории Штерна – Фольмера определены константы связывания бенгальского розового с альбумином человека при различных значениях рН. Обнаружены области значений рН, при которых происходит наиболее эффективное связывание бенгальского розового с альбумином человека, что объясняется взаимным соотношением электрических зарядов белка и наномаркера.

Подсекция «Биофизика»

Зависимости флуоресцентно-спектральных характеристик и процессов молекулярной ассоциации бенгальского розового в растворах сывороточного альбумина от рН, отражающие эффективность связывания наномаркера с белком, определяются значениями рК ионизируемых групп наномаркера, в свою очередь, определяемых электроотрицательностью атомов в его структурной формуле.

Подсекция «Биофизика»

Особенности флуоресценции растений при многокомпонентном возбуждении*Алексеев Алексей Алексеевич**Аспирант**Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,**Физический факультет, Москва, Россия**E-mail: alekseev@physics.msu.ru*

Одним из наиболее быстроразвивающихся и перспективных флуоресцентных методов исследования фотосинтеза является метод, в котором для возбуждения фотосинтетических пигментов используется излучение, имеющее многокомпонентный характер. Для возбуждения флуоресценции используются импульсы, имеющие различную длительность и интенсивность, а также свет постоянной интенсивности. Измерительный свет представляет собой высокочастотные импульсы малой интенсивности. Пример использования данного метода и его технические характеристики приведён в работе [1].

Кроме того, получаемые результаты эксперимента могут сильно зависеть от способа записи сигнала флуоресценции и характеристик используемых для этого приборов. Вопрос о том, какие именно компоненты флуоресценции в условиях многокомпонентного возбуждения регистрирует флуорометр в ходе эксперимента, является в настоящее время открытым.

Для исследования этой проблемы мы использовали методы численного эксперимента. Математическая модель, используемая в настоящей работе, подробно рассмотрена ранее в работе [2], в которой также приведены определения параметров используемой модели (констант скоростей реакций, характеристик источников света и других). Мы исследовали зависимость интенсивности флуоресценции ФС II в определённые моменты времени после окончания сильных насыщающих импульсов при изменении параметров, описывающих фотосинтетическую систему.

При этом мы варьировали следующие величины: времена задержки после окончания насыщающего импульса большой интенсивности, константы скоростей переноса энергии из ФС II в ФС I, интенсивность насыщающего света, поглощённого ФС II, а также константы скоростей сопряжения переноса электронов между ФС II и ФС I и в ФС II. Отметим, что для ускорения численного эксперимента мы увеличили примерно на два порядка интенсивность насыщающего света, и, соответственно, уменьшили время регистрации кинетических изменений.

Полученные зависимости флуоресценции от времени, вычисленные в моменты времени после окончания сильных возбуждающих импульсов существенно сложнее, чем зависимости, полученные для моментов времени в середине возбуждающих импульсов. Этот результат говорит о том, что в данных условиях изменения задержанной люминесценции существенно сложнее, чем изменения быстрой флуоресценции. Возможно, это связано с возникновением обратных реакций переноса электронов, возникающих в длительные промежутки времени.

Несмотря на обилие экспериментальных данных, нет развитой математической теории для их объяснения. В настоящее время выходит мало работ с применением РАМ-флуорометрии, направленных на выяснение состояния фотосинтетического аппарата при используемых условиях возбуждения флуоресценции. В этой работе мы пытаемся в какой-то степени заполнить этот пробел.

Подсекция «Биофизика»

Полученные в работе особенности кинетических кривых показывают связь между данными измерений на РАМ-флуорометрах и внутренним состоянием фотосинтетического аппарата.

Литература

1. Schreiber, U. Schliwa and W. Bilger. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer // Photosynth. Res. 1986, № 10. p. 51–62.
2. Кузнецова С. А. Диссертация на соискание учёной степени кандидат физ.-мат. наук // М.: Издательство МГУ. 2000.

Взаимодействие новых антрациофендионов с различными структурами ДНК*Ильинский Н.С.**Студент 6 курса**Московский физико-технический институт (государственный университет),**факультет молекулярной и биологической физики, Долгопрудный, Россия**E-mail: ilinsky_nick@mail.ru*

Антрациклиновые антибиотики и их аналоги являются ведущим классом веществ, применяемых в противоопухолевой химиотерапии. Эффективность лечения может уменьшаться из-за повышенной специфической органотоксичности веществ и адаптации опухолевых клеток к агентам. Изменение химической структуры антрациклинов направлено на преодоление недостатков препаратов.

В НИИИНА им. Г.Ф. Гаузе РАМН синтезирован ряд антрациофендионов с различными заместителями боковой цепи. В РОНЦ им. Н.Н. Блохина было показано, что эти соединения цитотоксичны и ингибируют теломеразу в микромолярных концентрациях (на культуре опухолевых клеток, МТТ-тест; TRAP-assay). Данная работа направлена на определение физических характеристик взаимодействия новых антрациофендионов с ДНК как с потенциальной терапевтической мишенью. С использованием ряда физических методов изучено связывание соединений с ДНК различной последовательности и структуры.

В качестве мишеней для лигандов рассматривались различные структуры ДНК: двойная спираль – тимусная ДНК, дуплексы – ds-d(AT)₂₀ и ds-d(GC)₂₀; G-квадруплексная структура, образованная теломерной последовательностью d(TTAGGG)₄; а также однонитевая ДНК – олигонуклеотид теломерной последовательности с единичным замещением гуанина на аденин.

При связывании лигандов с G-квадруплексной структурой наблюдалось значительное изменение в спектрах кругового дихроизма (КД) в области поглощения ДНК. Такое же изменение спектров КД происходит при плавлении теломерного G-квадруплекса. Это дает возможность предположить, что исследованные соединения приводят к разворачиванию структуры G-квадруплексов до неупорядоченного однонитевого состояния. Подобного изменения структуры двунитевой ДНК при связывании соединений не наблюдалось. Определено, что константа ассоциации лиганда ($K_a = 2 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$) на неструктурированном олигонуклеотиде (мутантной теломерной последовательности) в ~3-5 раз выше, чем на квадруплексной структуре, и в ~20 раз выше, чем на тимусной ДНК. Предполагается, что квадруплексная вторичная структура ДНК затрудняет доступ лигандов к сайтам связывания, понижая аффинность взаимодействия.

Также была выявлена слабая предпочтительность исследованных антрациофендионов к AT-богатым участкам двойной спирали ДНК (K_a с ds-d(AT)₂₀ в 3 раза выше ($K_a = 3 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$), чем на ds-d(GC)₂₀ и тимусной ДНК).

Таким образом, обнаружена избирательность изученных лигандов к неструктурированной гуанин-богатой нуклеотидной последовательности при связывании с ДНК. Этот результат

Подсекция «Биофизика»

может объяснить ингибирование теломеразы, не связанное со стабилизацией теломерного квадруплекса.

Можно предположить, что изученные вещества, конкурируя с различными белками, способны ингибировать ряд матричных процессов (в т.ч. работу теломеразы) и вызывать повреждение ДНК, запускающее процесс апоптоза.

Изучение агрегации сигма-субъединицы РНК-полимеразы с помощью АСМ

Кузьмина Н.В.

Студент

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
 физический факультет, Москва, Россия
 E-mail: kuzmina-natasha@inbox.ru

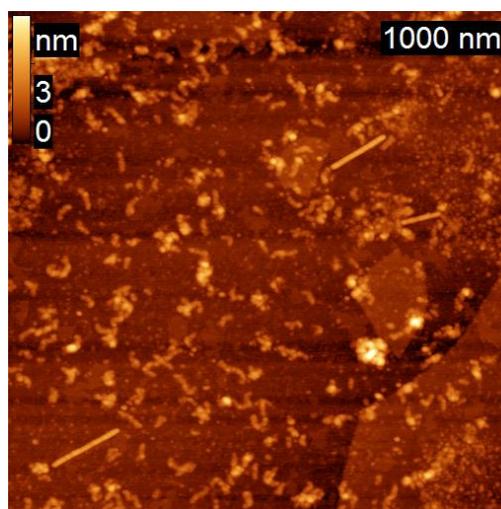
Для инициации транскрипции в бактериальных клетках требуется связывание основного фермента РНК-полимеразы с сигма-фактором. В клетках *Escherichia coli* таким сигма-фактором, обеспечивающим транскрипцию основных генов, является фактор σ^{70} [1]. За последние годы было накоплено много информации о структуре и функциях σ^{70} [2, 3], в том числе упоминалось об её способности образовывать агрегаты [4], однако мало внимания уделялось изучению физико-химических свойств этого белка, как и его исследованию с помощью прямых методов.

В данной работе впервые с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ) была исследована агрегация фактора σ^{70} . АСМ в настоящее время широко используется для прямого изучения белков и различных белковых структур [5, 6].

Полученные АСМ-изображения демонстрируют, что при нейтральных значениях pH и низкой ионной силе (~1-2 mM NaCl) белок σ^{70} наблюдается как в мономерной форме, так и в виде агрегатов, имеющих форму палочек длиной от нескольких десятков до нескольких сотен нанометров, причем доля последних возрастает при добавлении солей $MgSO_4$ (рис. 1). Диаметр образующихся агрегатов составляет $5,4 \pm 0,2$ нм. Образование подобных агрегатов происходит как на поверхности из слюды, так и поверхности высокоориентированного пиролитического графита.

С помощью подсчета объема адсорбированного белка, наблюдаемого на АСМ-изображениях, в данной работе была проведена оценка количественной доли образовавшихся агрегатов в общем количестве белка для экспериментов с разным ионным окружением. При этом массовая доля белковых агрегатов варьировала от 0 до 8%.

Анализ морфологии наблюдаемых палочкообразных агрегатов позволяет предположить, что они имеют амилоидную структуру. Похожие агрегаты неоднократно наблюдались, в том



ГОДЫ

Рис. 1. АСМ-изображение фактора σ^{70} РНК-полимеразы *Escherichia coli*, нанесенного из буфера 50 mM $MgSO_4$, 20 mM NaCl.

Подсекция «Биофизика»

числе с помощью АСМ [5, 6], для белков эукариотических клеток и являются причиной амилоидогенеза. Поэтому дальнейшее изучение подобных структур является важной и востребованной задачей.

Работа поддержана советом по грантам Президента Российской Федерации для поддержки молодых российских ученых (МК-5121.2010.2).

Литература

1. H. Maeda et al., *Nucleic Acids Res.* 28, 3497 (2000)
2. R.R. Burgess and L. Anthony, *Curr. Opin. Microbiol.* 4, 126 (2001)
3. A. Malhotra et al., *Cell* 87, 127 (1996)
4. A.L. Ferguson et al., *FEBS Lett.* 481, 281 (2000)
5. L.L. del Mercato et al., *Biomacromolecules* 9, 796 (2008)
6. A.K. Chamberlain et al., *Biophys J.* 79, 3282 (2000)

Влияние полилизиннов на распределение электрического потенциала в липидных мембранах

Марукович Н.И., МакМюррей М. Д

Студенты 6 курса

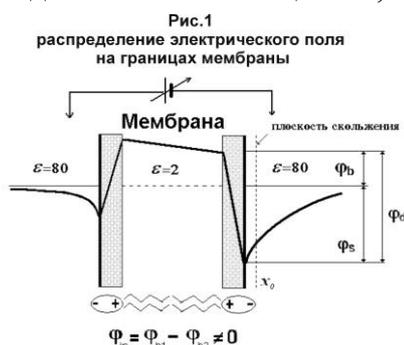
Московский физико-технический институт (ГУ)

Факультет молекулярной и биологической физики, Москва, Россия

E-mail: nmarukovich@gmail.com

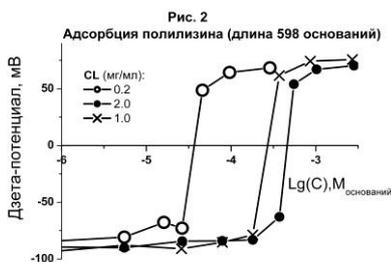
mjmsk01@yahoo.com

Основной электростатический вклад во взаимодействие пептидов с клеточными мембранами исследован нами по влиянию синтетических полипептидов с разной молекулярной массой (здесь полилизиннов), на распределение электрического поля в липидных мембранах. ■ Полный скачок электрического потенциала между гидрофобной фазой мембран и окружающим их водным раствором (граничный потенциал) состоит из диффузной и дипольной компонент: поверхностного и дипольного потенциалов, соответственно (рис.1). Об адсорбции полилизиннов можно судить по



изменению электрофоретической подвижности липосом (зета-потенциала), и тем самым определять поверхностный потенциал и заряд мембран и полимерного слоя. Метод компенсации внутримембранного поля (КВП) дает возможность на плоских липидных мембранах (БЛМ) регистрировать вызванные макромолекулами изменения полного граничного потенциала. Сопоставление данных двух методов позволяет оценить влияние полипептидов на дипольную компоненту граничного потенциала, изменение которой свидетельствует о возможных структурных изменениях в мембране и упаковке липидов в бислое [1].

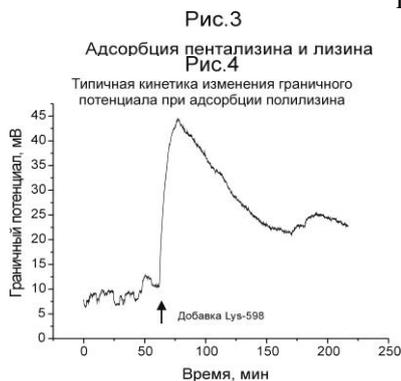
Измерения зета и граничного потенциалов проведены на липосомах и плоских БЛМ, сформированных из кардиолипина (CL) и фосфатидилсерина (PS), в присутствии полилизиннов, различной молекулярной массы и составе мембран и водного раствора. Показано, что адсорбция



положительно заряженных полипептидов происходит только на отрицательно заряженных мембранах в узкой области концентраций (в расчете на одно звено) и приводит к изменению знака заряда поверхности при ее насыщении. Высокое сродство к липидам характерно для заряженных макромолекул и приводит к тому, что они сорбируется практически необратимо, последовательно заполняя имеющуюся поверхность мембран [2]. Именно поэтому положение точки нулевого заряда зависит только

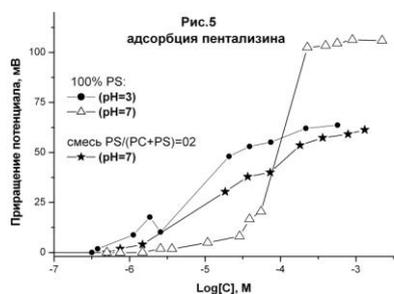
от размера этой поверхности (рис.2).

Адсорбция полилизинов приводит к заметно меньшему изменению граничного потенциала по сравнению с поверхностным. На рис.3 для сравнения приведены данные, полученные при адсорбции пентализина на липосомах и плоских БЛМ, сформированных из CL. Различие между граничным и поверхностным потенциалом указывает на уменьшение вклада дипольной компоненты. Об обратимости связывания полилизининов с поверхностью плоских липидных мембран судили по кинетике адсорбции и десорбции на плоских липидных мембранах, измеренной методом КВП при непрерывной перфузии ячейки.



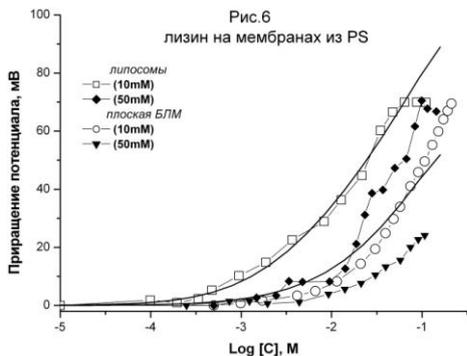
В контрольных опытах показано, что молекулы лизина находится в равновесии с поверхностью мембраны и десорбируются при уменьшении их концентрации в ячейке. В случае полилизининов даже наименьшего из изученных нами (пентализина), такого равновесия не наблюдается. Изменение граничного потенциала при его введении в ячейку имеет две компоненты разного знака (рис.4). Первоначальный скачок граничного потенциала указывает на быстрое появление положительного заряда на поверхности мембраны, за которым следует изменение потенциала в противоположном направлении. Как следует из контрольных опытов с перфузией ячейки, вторая фаза не связана с десорбцией пентализина и может быть отнесена к уменьшению дипольной компоненты потенциала в результате структурных изменений в мембране.

Основной электростатический вклад во взаимодействие пентализина с поверхностью мембран экспериментально доказан электрокинетическими измерениями в суспензии липосом, заряд которых варьировался содержанием PS в смеси с лецитином (PC), либо изменением pH (рис.5). Уменьшение исходного заряда липосом в этих опытах приводит практически к одинаковой зависимости дзета потенциала от концентрации пентализина. Заметим, что такое сравнение в случае мембран из CL невозможно, т.к. для таких мембран зависимости эффекта от pH должно наблюдаться вблизи pH около 1, тогда как для PS этот диапазон в соответствии с литературными



и нашими данными характеризуется $pK=3.0$ [1].

Более существенное различие CL и PS обнаруживается при адсорбции лизина. Изменение граничного потенциала плоских БЛМ становится заметным при концентрациях почти на порядок выше, чем в суспензии липосом из того же липида. На рис.6 приведены теоретические кривые, построенные в рамках модели Гуи-Чепмена при условии равновесного распределения молекул лизина между раствором и поверхностью мембраны ($K=10^{-3} M^{-1}$), а также при дополнительном предположении, что каждая адсорбированная молекула лизина приводит к



Подсекция «Биофизика»

уменьшению дипольного потенциала, например, уменьшая дипольный момент полярных головок липида либо количества ассоциированных с ними молекул липида. Эта достаточно грубая модель качественно описывает адсорбцию лизина при низкой концентрации фонового электролита и согласуется с нашими наблюдениями по адсорбции пентализина и полилизиннов с большой молекулярной массой.

Литература

1. *Ermakov Yu. A., Sokolov V.S.* Boundary potentials of bilayer lipid membranes: method and interpretations // *Planar Lipid Bilayers and Applications/* Eds Tien H.T., Ottova A.N.Y.:Elsevier, 2003.P.109-141
2. *О.А. Финогенова, Д.В. Филинский, Ю.А. Ермаков* Электростатические эффекты при адсорбции и десорбции полилизиннов на поверхности липидных мембран разного состава// *Биол. мембраны.* 2008. Т. 25. № 3. С. 217-226.

Теоретическое и экспериментальное исследование процесса адсорбции кислорода в молекуле бычьего сывороточного альбумина методом спинового зонда.***Немова Евгения Федоровна****Младший научный сотрудник**Институт Лазерной Физики СО РАН, Новосибирск, Россия**E-mail: endy@ngs.ru*

Под влиянием ТГц излучения в молекуле бычьего сывороточного альбумина (БСА) происходят конформационные перестройки [3,5]. Природа этих перестроек пока не изучена, но результаты, полученные при исследовании современными физико-химическими методами, позволяют предположить, что существенную роль в этих изменениях играет пространственное положение функциональных групп аминокислот, входящих в состав БСА. В проведенном ранее экспериментальном исследовании [2,6], было показано увеличение амплитуды триплетной линии в спектре ЭПР облученного образца БСА по сравнению с необлученным и высказано предположение о влиянии адсорбции кислорода некоторыми аминокислотными остатками на ширину этой линии. Даная работа посвящена моделированию процессов адсорбции кислорода и экспериментальной проверки влияния насыщенности раствора БСА кислородом на ширину линии в спектре ЭПР.

Расчеты проводили при помощи программы CS Chem 3D Pro, версия 5.0 (Cambridge Soft Corporation, U.S.A.) с применением полуэмпирических методов MNDO, AM1 и PM3, дополненных методом молекулярной механики MM2. Как было показано в работе [4], для ответа на вопрос о возможности химического превращения бывает достаточно оценить, является ли энергетически выгодным простое сближение реагентов на расстояние, в 2-3 раза превышающее длину ожидаемой химической связи. Если такое сближение реагентов оказывается энергетически невыгодным, то протекание химической реакции маловероятно. Моделировали адсорбционное взаимодействие функциональных групп аминокислот, входящих в состав БСА, с молекулярным кислородом и углекислым газом. Для этого рассматривали гипотетический адсорбционный комплекс, образующийся при такой адсорбции, и искали геометрическое положение компонентов, соответствующее минимуму энергии. Из расчетных данных было получено, что наибольший выигрыш по энергии получается при адсорбции кислорода на пирролиновых структурах – выигрыш энергии 5,7 ккал/моль. Такие фрагменты содержатся в аминокислотных остатках пролина. Одна молекула БСА содержит 28 таких остатков. Эта аминокислота содержит пирролиновое кольцо, соединенное с соседними аминокислотными остатками аминокислотным радикалом и группой СН. Пролин резко изгибает пептидную цепь, создавая переход из α -спирали в β -складку. Таким образом, исходя из результатов моделирования, можно предположить, что адсорбция кислорода наиболее вероятна на остатках пролина, а это, в свою очередь может повлиять на изменениях конформации, вызываемых ТГц облучением БСА

Исходя из экспериментальных данных и результатов моделирования, следующим шагом исследования стала зависимость ширины линии сигнала ЭПР от степени насыщенности O_2 раствора, в котором находился облученный или необлученный (контроль) БСА. Раствор был насыщен кислородом при температуре 23° С. Затем кислород удаляли,

Подсекция «Биофизика»

продувая раствор БСА аргоном в течение 2 – 30 мин. Степень насыщенности кислорода в растворе контролировали колориметрически: по появлению красного окрашивания при окислении индигокармина [1]. Полученная зависимость приведена на рис.1.

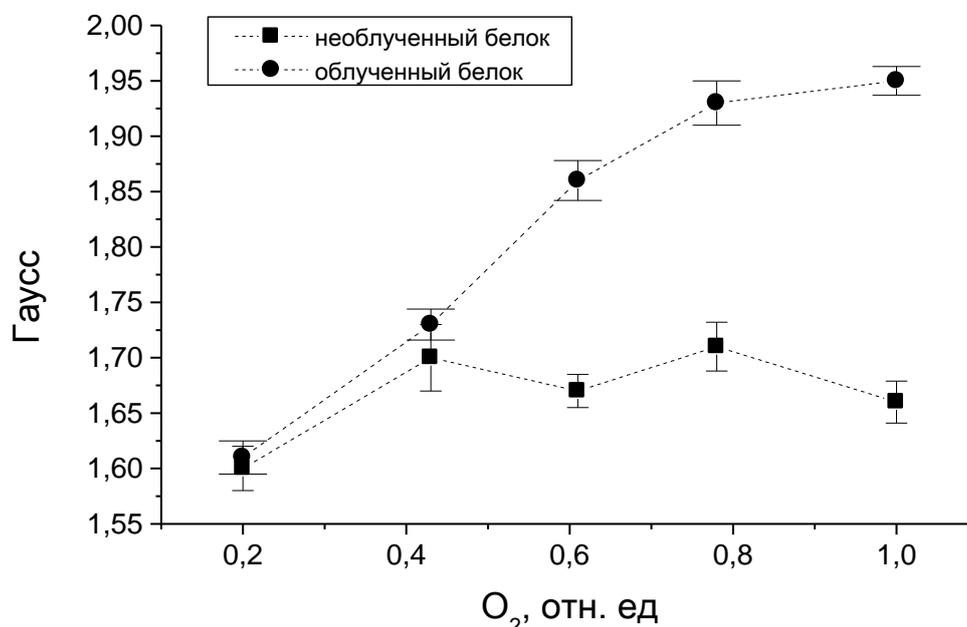


Рис. 1. Зависимость ширины линии в спектре ЭПР (Гаусс) от степени насыщенности раствора кислородом.

Вид этих концентрационных зависимостей позволяет предположить, что триплетный сигнал в спектре ЭПР, обусловлен нитроксильным радикалом [2] образование которого происходит на реакционных центрах БСА с участием кислорода, присутствующего в растворе. Таким образом, под действием этого излучения происходят конформационные изменения, облегчающие взаимодействие с кислородом, возможно снимающие стерическое затруднение и высвобождающие парамагнитные центры БСА.

Литература

1. Крешков А.П. Курс аналитической химии. М., Химия, 1973.
2. Немова Е.Ф., Федоров В.И. Вестник НГУ. Серия Физика. 2010. Т.5, вып. 4. С. 16-101.
3. Черкасова О.П., Федоров В.И., Немова Е.Ф., Погодин А.С. Оптика и спектроскопия, 2009. Т.107, №4. С. 565-568.
4. Dultsev F.N., Dultseva G.G. Applied Magnetic Resonance. 2007, v. 33, p. 731-737.
5. Govorun V.M., Tretiakov V.E., Tulyakov N.N., Fleurov V.B., Demin A.I., Volkov A.Yu., Batanov V.A, Kapitanov A.B. Int. J. Infrared and Millimeter Waves. 1991. v. 12, p. 1469-1474.
6. Nemova E.F., Cherkasova O.P., Fedorov V.I. EPR study of the effect of terahertz radiation on the albumin conformation dynamics. Proc. SPIE. 2010, v. 7993, p. 799325-1 – 799325-5

Поляризованная триптофановая флуоресценция в исследовании вращательной диффузии альбумина человека при денатурации под действием ЦТАБ**Журавлева В.В. (аспирант), Власова И.М. (ст. преп., кандидат физ. - мат. наук)***МГУ им. М.В. Ломоносова, Физический факультет, Москва, Россия**E-mail: vlasovairina1979@mail.ru*

В работе по анализу поляризованной триптофановой флуоресценции белка (длина волны возбуждения флуоресценции 295 нм) определены параметры вращательной диффузии молекул сывороточного альбумина человека при денатурации под действием цетилтриметиламмонийбромида (ЦТАБ) при различных значениях рН. Единственный аминокислотный остаток триптофана Trp-214 в сывороточном альбумине человека, состоящем из трех доменов, расположен в домене II.

Денатурация сопровождается утратой белком функциональных свойств, что обуславливает интерес к изучению механизмов белковой денатурации. В биохимических и медицинских исследованиях денатурацию белков часто вызывают действием ионных детергентов, к таким детергентам относится катионный детергент ЦТАБ.

В ходе исследований получены спектры поляризованной триптофановой флуоресценции сывороточного альбумина человека (5 мкМ) в растворах с различными концентрациями ЦТАБ (0,5 – 7,0 мМ) при различных значениях рН (3,5 – 8,0). Для анализа вращательной диффузии молекул альбумина человека в итоговые растворы добавлены различные концентрации сахарозы (0–200 мМ). Степень поляризации P триптофановой флуоресценции белка рассчитывалась по значениям интенсивности в максимуме спектра испускания флуоресценции белка. Меняя вязкость растворов добавлением различных концентраций сахарозы по формуле Левшина – Перрена, определены время вращательной релаксации, коэффициент вращательной диффузии и эффективный радиус Эйнштейна молекул сывороточного альбумина человека в растворах с различными концентрациями ЦТАБ при различных значениях рН.

Обнаружено увеличение степени поляризации триптофановой флуоресценции альбумина человека, уменьшение коэффициента вращательной диффузии молекул альбумина, увеличение времени вращательной релаксации молекул альбумина и увеличение эффективного радиуса Эйнштейна молекул альбумина в растворах с ЦТАБ, что объясняется денатурацией белка под действием детергента, причем величина указанных изменений параметров вращательной диффузии молекул альбумина в растворах с ЦТАБ определяется значением рН.

В растворах происходит диссоциация молекул ЦТАБ на цетилтриметиламмоний-катионы и анионы брома. При значениях рН, больших изоэлектрической точки белка рI 4,7, молекулы альбумина в целом отрицательно заряжены, и цетилтриметиламмоний-катионы интенсивно связываются с белком, что приводит к существенной денатурации белка и к сильному изменению параметров вращательной диффузии альбумина. При рН, меньших рI, цетилтриметиламмоний-катионы слабо взаимодействуют с положительно заряженными молекулами альбумина, что приводит к слабой денатурации белка при этих рН и к слабому изменению параметров вращательной диффузии альбумина.

По зависимостям параметров вращательной диффузии (время вращательной релаксации, коэффициент вращательной диффузии, эффективный радиус Эйнштейна) молекул сывороточного альбумина человека от концентрации ЦТАБ обнаружено, что денатурация альбумина под действием ЦТАБ при всех исследованных значениях рН (3,5 – 8,0) носит одностадийный характер – белковые глобулы разрыхляются под действием ЦТАБ до

концентрации 4 мМ ЦТАБ, дальнейшее увеличение концентрации ЦТАБ ничего не меняет в системе.

Малообъёмный автоматический стратостат для забора проб воздуха**Миронов Николай Игоревич***Инженер Конструкторского Бюро Информационных Систем НТУУ «КПИ», Киев
avialife@ukr.net*

Читаем нередко об исследованиях, при которых необходимо получить пробы воздуха с высот более 15000 метров. Например, программа CASS•E Европейского Космического Агентства по поиску стратосферных форм жизни (<http://www.cass-e.com>).

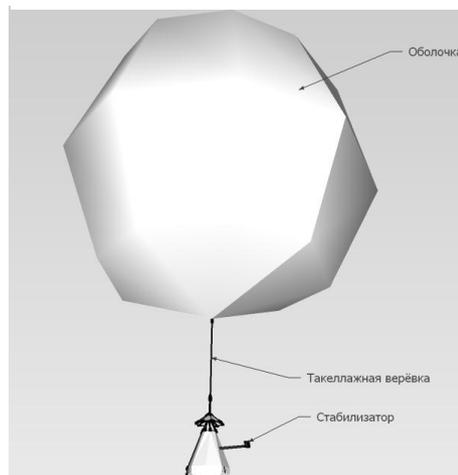
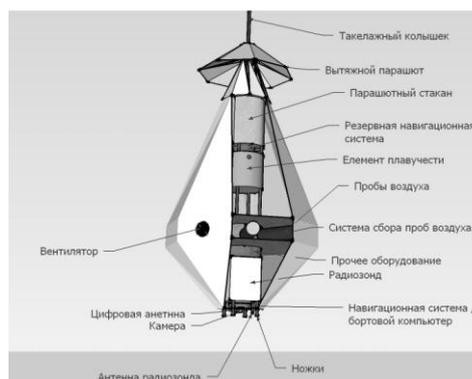
Стратостат с полиэтиленовой оболочкой с расчетной высотой полёта 25-35 км, применяемый ими, не является оптимальным решением ввиду высокой стоимости, а также ограничений, накладываемых габаритами.

После анализа доступных технологий мы пришли к выводу о целесообразности создании стратостата на основе латексных оболочек и многоразового контейнера, весом 1500 – 3500 грамм. Удачный опыт Google по применению бытовых смартфонов для управления системами стратостата позволяют рассматривать такие средства как комплектующие, что снижает стоимость.

Программа полёта предполагает: после запуска аппаратуры, наполнения оболочки и монтажа аппарата, происходит выпуск в свободный полёт. Аппарат набирает высоту, ёмкости для проб воздуха вентилируются посредством вентилятора-нагнетателя. На заданных высотах ёмкости герметизируются и остаются в таком состоянии до передачи заказчику.

Оболочка, при достижении критической высоты, разрывается, аппарат падает; под действием набегающего потока вытяжной парашют движется вверх по такелажному кольшку, извлекая основной парашют, который и обеспечивает мягкую посадку. Координаты контейнера передаёт основная система навигации (например, смартфон с модулем GPS); в случае её отказа – резервная (к примеру, мобильный телефон с функцией навигации «по базовым станциям»).

Наличие на борту радиозонда позволит работать совместно с аэрологической обсерваторией, получая по ходу полёта сопутствующие данные атмосферы. Наличие на борту фото/видео аппаратура даст возможность получить дополнительный научный материал, а также эффектные снимки, которые можно использовать для рекламы научной программы, популяризации и т. д. Размещение на борту дополнительного оборудования, например с целью контроля состояния озонового слоя, может быть следующей главой развития такой технологии.

Общий вид:*Вариант компоновки контейнера:*

Подсекция «Биофизика»

Варианты весовой компоновки (грамм):

Система	Вариант 1	Вариант 2	Вариант 3	Вариант 4
Система сбора и хранения проб воздуха	1500	1400	1000	900
Навигационная система	110	-	110	-
Резервная навигационная система	100	100	100	100
Радиозонд	350	-	350	-
Фото/видео	150	-	150	-
Спас. система	200	200	200	200
Конструкция	1000	500	500	300
Всего	3410	2200	2410	1500

Теоретически достижимые высоты:

Тип оболочки	Вес контейнера		
	3410	2200	1500
500	19000	22000	23000
1600	35000	37000	38000
3000	40000	41000	42000

Литература

1. Полозов Н. П., Сорокин М. А. «Воздухоплавание», М., Воениздат НКО СССР, 1940 г., www.amyat.narod.ru;
2. Хахалин В.С. «Современные радиозонды», Массовая радиобиблиотека 1959 г., <http://www.diagram.com.ua>;
3. Лосик С.А., Козлов И.А., «Оборудование дирижаблей», М., Оборонгиз, 1939 г., www.filesonic.com;
4. Фридзон М.Б. «О возможности повышения высоты радиозондирования
5. атмосферы на аэрологической сети Росгидромета», www.zondr.ru.

Анализ кластеризации геномов методом DFA

Назаров Леонид Игоревич

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, физический факультет

Любую хромосому можно представить графически, с помощью блуждания последовательности ДНК на двумерной плоскости[1]. Недавно, подобные блуждания для ряда хромосом бактерий и архей были исследованы с помощью детрендного анализа флуктуаций (Detrended Fluctuation Analysis, DFA), где были обнаружены некоторые типы кластеризации геномов[2]. Мы детально проанализировали природу этой кластеризации и показали, что интегральный параметр - скейлинговая экспонента, характеризующий корреляционные свойства последовательностей ДНК, принимает различные значения на больших и малых масштабах для рассматриваемых последовательностей. Мы обнаружили, что статистика длин ген-векторов и статистика использования кодонов[3] на двумерном ДНК блуждании коррелирует со значениями скейлинговой экспоненты. Детальный анализ кластеризации показал, что это разделение на больших масштабах существенно зависит от позиций генов на стрендах, связанной с их направлением транскрипции, и экстремофильность рассматриваемых геномов является основным свойством данной кластеризации.

1. S.A.Larionov, A.Loskutov, and E.V.Ryadchenko, "Genome as a two-dimensional walk", Dokl. Phys. 50, 634–638, (2005)
2. Juan A.L. Garcia, Frederic Bartumeus, David Roche, Jesús Giraldo, H. Eugene Stanley, Emilio O. Casamayor, "Ecophysiological significance of scale-dependent patterns in prokaryotic genomes unveiled by a combination of statistic and genometric analyses". Genomics, 91, 538–543, (2008)
3. Maria S. Poptsova, Sergei A. Larionov, Eugeny V. Ryadchenko, Sergei D. Rybalko, Ilya A. Zakharov, Alexander Loskutov. "Hidden Chromosome Symmetry: In Silico Transformation Reveals Symmetry in 2D DNA Walk Trajectories of 671 Chromosomes" PLoS ONE 4(7): e6396. (2009)

Влияние концентрации кальция на спектральные характеристики фотолюминесценции обелина**Алиева Р.Р.****сотрудник**

Сибирский федеральный университет,
Институт фундаментальной биологии и биотехнологий, Красноярск, Россия
E-mail: alieva_rosa@mail.ru

В настоящее время известен биолюминесцентный способ определения концентрации кальция [1]. В данном способе используются фотопротеин обелин, выделенный из гидроидного полипа *Obelia longissima*. Способ основан на том, что в присутствии ионов кальция запускается биолюминесцентная реакция, и интенсивность биолюминесценции зависит от концентрации кальция. По калибровочной зависимости интенсивности биолюминесценции от концентрации кальция определяют концентрацию кальция в тестируемом растворе. Однако этот метод имеет ряд недостатков: невозможность количественного определения кальция в системах *in vivo* и необходимость проведения химической реакции для каждого измерения.

В данной работе найден новый способ определения концентрации кальция в различных средах, основанный на фотолюминесценции разряженного фотопротеина обелина (продукт биолюминесцентной реакции принято называть разряженным фотопротеином).

Были исследованы спектральные характеристики спектров фотолюминесценции (спектр испускания и возбуждения) фотопротеина обелина при различных концентрациях Ca^{2+} . Установлено, что спектры фотолюминесценции зависят от концентрации ионов кальция в системе ($[\text{Ca}^{2+}] = 0 \div 5 \cdot 10^{-3}$ М). Увеличение концентрации кальция сдвигает максимумы спектров испускания в длинноволновую область (на 13 нм), а спектры возбуждения в коротковолновую (на 4 нм). Таким образом, варьируя содержание ионов кальция в ферментативной системе можно изменять спектральные характеристики фотолюминесценции разряженного обелина.

Были построены зависимости интенсивности спектров возбуждения и испускания от концентрации кальция в двойных логарифмических координатах. Эти зависимости имеют линейные участки в интервале концентраций $2,2 \cdot 10^{-7} - 1,4 \cdot 10^{-6}$ М, как и в случае биолюминесценции, изученной ранее [1]. Таким образом, интенсивность фотолюминесценции разряженного обелина наравне с интенсивностью биолюминесценции может быть использована для количественного определения ионов кальция.

Подсекция «Биофизика»

Новый способ определения концентрации кальция отличается от биолюминесцентного тем, что фотолюминесценцию инициируют источником света после завершения биолюминесцентной реакции и измеряют интенсивность фотолюминесценции при заданной длине волны возбуждения и регистрации. Данный способ может позволить проводить непрерывные измерения концентрации кальция в системах *in vivo*.

Достоинствами фотолюминесцентного метода по сравнению с биолюминесцентным является: простота регистрации, так как измерения не связаны с проведением дополнительных биохимических процессов; более высокая чувствительность; а главное возможность проводить повторные измерения. Перспективным направлением является совмещение фотолюминесцентного и биолюминесцентного методов для количественного определения концентрации кальция.

Литература

7. В.А. Шаронов et al. J. Methods in enzymology, 305, 223-249 (2000).

Влияние модификаций порфирина ТМРyP4 на стабилизацию структуры G-квадруплексов**Ковалёва О.А.***Московский физико-технический институт (ГУ), Долгопрудный, МО**E-mail: oksanakov2005@yandex.ru*

Соединения, проявляющие высокое сродство к G-квадруплексам, способны стабилизировать структуру и изменять функции ДНК. G-квадруплексы – это структурные единицы ДНК, поддерживающие стабильность теломер и участвующие в регуляции экспрессии генов. Ряд производных порфиринов подавляет рост опухолевых клеток, и являются потенциальными противоопухолевыми препаратами. Соединение-прототип 5,10,15,20-тетраakis(4-N-метилпиридиний)порфирин (ТМРyP4), известно как квадруплексный лиганд. Химические модификации этого соединения направлены на повышение избирательности к G-квадруплексам. В данной работе изучено сродство к ДНК новых, синтезированных в Ивановском государственном химико-технологическом университет, модификаций ТМРyP4: (1) 5,10,15,20-тетраakis(N-карбоксиметил-4-пиридиний)порфирина и (2) 5,10,15,20-тетраakis(N-этоксикарбонилметил-4-пиридиний)порфирина.

Взаимодействие с тимусной ДНК (дуплекс), G-квадруплексными структурами образованными теломерной последовательностью и последовательностью из промотора онкогена c-Myc. исследованы с использованием ряда оптических методов.

Определено, что константа связывания соединения (1) в 10 раз выше, чем соединения (2) с исследованными структурами ДНК. Установлено предпочтительное связывание новых производных порфирина с G-квадруплексными структурами по сравнению с двойной спиралью ДНК. Изучена стабильность теломерного G-квадруплекса в комплексе с новыми производными порфиринов в различных ионных условиях в присутствии 100мМ NaCl и 100мМ KCl. Соединение (1) стабилизирует теломерный G-квадруплекс на ~25°C, а (2) на ~15°C в то время как в присутствии только ионов Na⁺ структура ДНК стабилизируется ~5°C. Значительная разница в стабильности ДНК коррелирует со структурным переходом G-квадруплекса из антипараллельной структуры в параллельную под действием соединений в присутствии ионов K⁺.

В данной работе установлено, что замена карбоксильной на сложноэфирную группу приводит к уменьшению сродства производных порфирина к ДНК. Обнаруженные свойства новых производных ТМРyP4 в комплексе с различными структурами ДНК позволяет получить новую информацию о физике процесса связывания, а также о механизме противоопухолевого действия этих соединений.

**Моделирование группы нейронов и астроцитов в условиях
ишемического инсульта**

Макаров С.С.

Аспирант

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
физический факультет, Москва, Россия
E-mail: makarychs@gmail.com*

Целью данной работы является построение физиологической модели небольшого фрагмента ткани головного мозга, и изучение эффектов, происходящих в данной системе в условиях ишемического инсульта.

В рамках модели ткань головного мозга представлена в виде совокупности нейронов, астроцитов и окружающего их межклеточного пространства. Переменными модели (и в то же время индикаторами состояния клеток) являются концентрации различных химических веществ (калий, натрий, хлор, кальций и глутамат), объем нейронов и астроцитов, а также степень поляризации мембраны нейронов.

Модель построена по принципу интеграции существующих моделей каждого из процессов, влияющих на состояние системы в целом. Для подробного описания ионных токов через клеточную мембрану мы опираемся на работу [1]. Моделируя синаптическую связь между нейронами, мы используем модель [3]. В качестве основания для моделирования кальциевой волны в астроцитах использована работа [2].

Главной чертой модели является новый подход к моделированию структуры клеточной ткани. Элементы системы объединены в граф, модифицируя который, можно моделировать разную топологию связей клеток в ткани. Узлами графа являются нейроны, астроциты, а также межклеточное пространство, которое (для учета пространственной диффузии) представлено в виде совокупности некоторого числа узлов и соединяющих их ребер.

Каждое ребро графа соответствует одному из процессов переноса в системе. Ребра графа, соединяющие нейроны, проводят синаптические сигналы. Ребрам между астроцитами соответствуют процессы диффузии кальция и вторичного переносчика кальциевых волн (инозитол 1,4,5-трифосфата) через щелевые контакты на мембране астроцита. На ребрах, соединяющих элементы межклеточного пространства, решаются уравнения диффузии. Наконец, на ребрах, соединяющие нейроны и астроциты с межклеточным пространством, решаются уравнения переноса веществ через ионные каналы, расположенные на мембране клеток.

Решая получившуюся систему дифференциальных уравнений на графе, можно получить картину пространственного развития зоны поражения при инсульте, и в то же время не строить громоздких двумерных разностных схем. В работе моделируется группа из трех нейронов и трех астроцитов. Тем не менее, модель может быть легко расширена.

С помощью модели был получен экспериментально наблюдаемый осцилляционный режим в кольце нейронов, проанализировано влияние топологии связи астроцитов на развитие кальциевой волны, а также продемонстрировано, как применение препаратов, поддерживающих работу ингибирующих синапсов, может ограничить распространение зоны поражения при ишемическом инсульте.

Литература

8. Dronne M.A., Boissel J.P., Grenier E. A mathematical model of ion movements in grey matter during a stroke. *Journal of Theoretical Biology* 240, 599-615 (2006)
9. Hofer T., Venance L., Glaume C. Control and plasticity of intercellular calcium waves in astrocytes: a modeling approach. *Journal of Neuroscience* 22, 4850-4859 (2002)
10. Kopell N., Ermentrout G. B., Whittington M. A., Traub R. D. Gamma rhythms and beta rhythms have different synchronization properties. *PNAS* 97, 1867–1872 (2000)

Влияние вариации изотопного состава воды на подвижность сперматозоидов

Киркина Антонина Александровна

Аспирант

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, физический факультет

Сразу с открытия дейтерия и получения тяжелой воды в 1933 г. началось изучение действия изотопа водорода - дейтерия, на биологические системы. К настоящему времени известно, что высокие концентрации дейтерия угнетают рост микроорганизмов, ингибируют рост растений, при концентрации более 30% приводят к смерти млекопитающих [1,2]. С начала XXI стали производить воду, содержащую во много раз меньше дейтерия, чем содержит природная вода. Её называют легкой водой. Появились работы с информацией о лечебных свойствах «облегченной» воды, содержащей 60 ppm и 90 ppm дейтерия (в природной воде содержание дейтерия около 150 ppm) [3].

Целью нашей работы было изучение влияния вариации изотопного состава воды на клеточном уровне. Объектом исследования были выбраны сперматозоиды человека. В опытах использовалась вода со следующим изотопным составом: D/H = 4 ppm, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O} = 1335$ ppm (1 ppm = 10^{-6}), тяжелая вода (99%), химически чистые вещества, сперматозоиды человека, камера Маклера, спермаанализатор. Сперматозоиды разводили до концентрации 20 млн/мл в питательной среде TALP2, содержащей NaCl - 107,7 мМ, KCl - 3,1 мМ, Na_2HPO_4 - 0,36 мМ, CaCl_2 - 2 мМ, лактатдегидрогеназу - 25,4 мМ, пируватдегидрогеназу - 1 мМ, гидроксиэтил-азинэтансульфокислоту (HEPES) - 10 мМ, NaHCO_3 - 15 мМ, MgCl_2 - 1 мМ.

В работе изучалась подвижность сперматозоидов. Спермаанализатор регистрирует движение клеток и рассчитывает среднее значение произведения концентрации сперматозоидов на пройденное ими расстояние за определенный промежуток времени, которое будем называть подвижностью. Этот промежуток времени задается экспериментатором. В данной работе он составил 20 секунд.

Опыты были поставлены в разных вариантах – контроль в обычной воде, контроль*(смесь легкой и тяжелой воды, приведенная к природному содержанию дейтерия), легкая вода, а также растворы, содержащие увеличенную долю 0,5%, 1%, 5% дейтерия. Значения для подвижности сперматозоидов нормировались на первоначальное значение в данном капилляре. Анализировались нормированные значения подвижности. Обработка результатов опытов проводилась с использованием критерия Фишера, критерия знаков, t-распределения Стьюдента.

Подсекция «Биофизика»

Полученные значения подвижности для двух вариантов опытов (с легкой водой и контролем) представлены на рисунке 1.

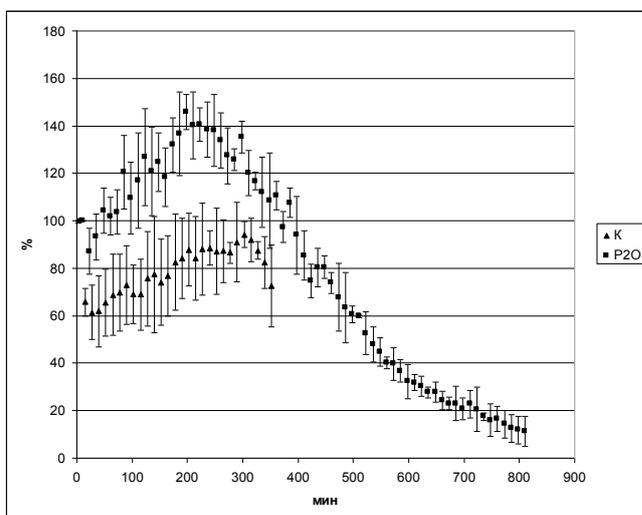


Рисунок 1. График зависимости нормированной подвижности сперматозоидов от времени.
К-контроль, P2O - легкая вода.
Указан 5-процентный уровень значимости.

В экспериментах по тепловому шоку подвижность клеток экспоненциально уменьшалась во времени, но достоверных различий для сред с разным изотопным составом не было замечено.

Литература

1. Лобышев В. И., Калининченко Л. П. Изотопные эффекты D₂O в биологических системах, М.: Наука, 1978.-215 с.
2. Денько Е. И. Действие тяжелой воды (D₂O) на клетки животных, растений и микроорганизмов // Успехи соврем. биол., 1970, № 70, вып. 1, (4), с. 41-64.
3. Тимаков А. А. Свойства легкой воды. // 8-ая Всероссийская (международная) научная конференция *Физико-химические процессы при селекции атомов и молекул*, ноябрь, 2003.

Спектры флуоресценции листьев бобов при ингибировании электронного транспорта в хлоропластах**Калмацкая О.А., студентка, Левыкина И.П., инженер***Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
физический факультет, Москва, Россия**E-mail: kalmackaya@physics.msu.ru**levykina@physics.msu.ru*

Спектр флуоресценции зеленого листа имеет два максимума в красной области спектра: около 680 и 730 нм. Предполагается, что длинноволновая полоса флуоресценции связана либо с перепоглощением флуоресценции хлорофилла фотосистемы 2, либо с перераспределением энергии возбуждения между фотосистемами при восстановлении молекул – переносчиков электрона [1]. В данной работе исследованы спектры флуоресценции листьев бобов *Vicia faba L.* (сорт “Русские чёрные”), обработанных ингибитором электронного транспорта диуроном. В экспериментах использовали проростки, выращенные в лабораторных условиях. Раствор диурана концентрации 10^{-4} М вводили в лист через центральную жилку с помощью медицинского шприца, в контроле использовали дистиллированную воду. Лист помещали в держатель спектрофлуориметра Solar CM2203, предварительно освещали светом с длиной волны 430 нм, адаптировали к темноте в течение 5 минут, а затем снимали спектры флуоресценции при освещении светом той же длины волны.

В листьях контрольных растений наблюдалось общее уменьшение интенсивности флуоресценции с увеличением времени освещения (так называемая медленная индукция флуоресценции), при этом соотношение интенсивностей изменялось в пользу длинноволновой полосы (рис.1). В присутствии диурана, ингибирующего электронный транспорт непосредственно после первичных акцепторов фотосистемы 2, подобных изменений со временем освещения не наблюдалось (рис.2). Полученные данные указывают на связь длинноволновой полосы флуоресценции листа с работой цепи электронного транспорта между фотосистемами.

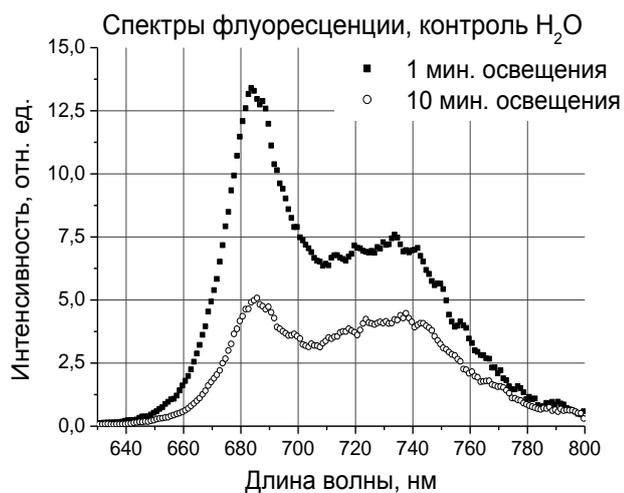


Рис.1

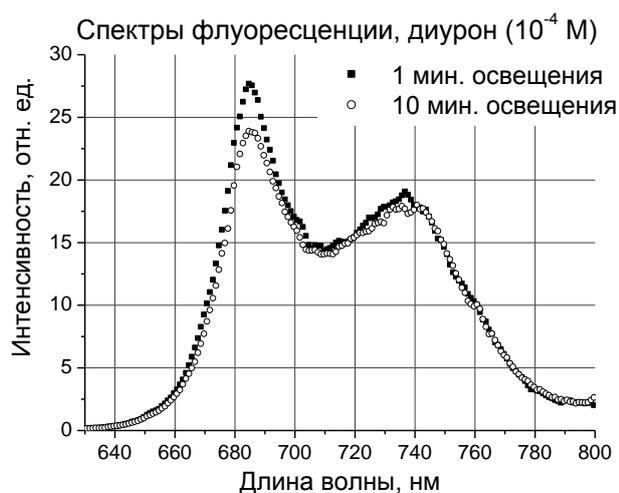


Рис.2

1.Асланиди К.Б., Шалаленок А.А., Карнаухов В.Н., Берестовская Н.Г., Шавкин В.И. Метод определения функционального состояния растений по спектрам флуоресценции хлорофилла (техника биомониторинга). Пушино: НЦБИ АН СССР, 1988.

Неинвазивные биомаркеры жизнеспособности эмбрионов.

Трошина М.Н.

Аспирант

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
физический факультет, Москва, Россия
E-mail: troshina_maria@mail.ru*

В последние 20 лет во всем мире быстрыми темпами развиваются вспомогательные репродуктивные технологии. В связи с этим множество работ посвящено неинвазивным методам определения жизнеспособности эмбриона [1]. Несмотря на неоспоримую эффективность методов вспомогательных репродуктивных технологий, при применении стандартных процедур у пациентов могут возникнуть осложнения. Одним из таких осложнений является синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ) [2]. Патогенез СГЯ окончательно не выяснен. Типичными системными эффектами СГЯ являются увеличение проницаемости капилляров и пролиферация эндотелиальных клеток.

Одной из задач работы является экспериментальное подтверждение предположения, что при СГЯ характерно изменение трансмембранного потенциала клеток по отношению к контролю. В последнее время множество работ посвящено кумулюсным клеткам как биомаркерам жизнеспособности эмбриона [3]. Объектом нашего исследования являются клетки кумулюса и гранулезы человека, в экспериментах используется метод пэтч-кламп (метод локальной фиксации потенциала).

Вторая задача исследования состоит в нахождении корреляции уровня экспрессии рибосомных генов клетками кумулюса с характером патологии с помощью метода количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени. Предварительные результаты показали, что при синдроме поликистозных яичников (синдроме Штейна-Левенталя), сочетанном с СГЯ, происходит значительное (в 20 раз) накопление продукта пре-рРНК-транскрипта 5.8 S рРНК, при общем снижении остальных (18S, 28S) пре-рРНК-транскриптов. Из этих данных можно заключить, что при данном виде патологии нарушается сборка рибосом.

Стандартные процедуры методов вспомогательных репродуктивных технологий предполагают наличие когорты эмбрионов. В таком случае требуется выбрать наиболее жизнеспособные эмбрионы. Сейчас выбор эмбрионов осуществляется на основании субъективных морфологических параметров, что может говорить только о синхронности дробления эмбрионов, а не об их жизнеспособности. Как альтернатива разрабатывается количественная методика определения потенциала жизнеспособности эмбрионов человека

пятого дня развития на основе анализа продуктов их метаболизма. Метаболиты исследуются при помощи ЯМР спектроскопии высокого разрешения.

Литература

1. Brison DR, Hollywood K, Arnesen R, Goodacre R., Reprod Biomed Online. Sep;15(3):296-302. (2007)
2. Natri C O, Ferriani R A, Rocha I A, Martins W P., J Assist Reprod Genet. 27(2-3): 121–128. (2010)
3. Assou S, Haouzi D, De Vos J, Hamamah S. Mol Hum Reprod. Aug;16(8):531-8. (2010)

Изучение ионного транспорта, осуществляемое Na,K,АТФазой с помощью электрических измерений на искусственной мембране на твердой подложке.**Конов Степан Дмитриевич***Студент, бакалавр**Московский физико-технический институт (государственный университет), Россия,**Долгопрудный**E-mail: stepankonev@gmail.com*

Na,K,АТФаза – мембранный белок, осуществляющий активный транспорт трех ионов натрия из клетки и двух ионов калия внутрь клетки за счет энергии гидролиза одной молекулы АТФ. Активный транспорт осуществляется в результате обмена ионов между растворами и центрами связывания через каналы доступа, а энергия АТФ используется на конформационный переход E1/E2, в результате которого происходит закрытие каналов с внутриклеточной стороны белка и их открытие с внеклеточной стороны. Для исследования электрогенного транспорта ионов натрия в каналах доступа Na,K,АТФазы нами был разработан метод импедансной спектроскопии (Sokolov et al. 2008, 161-180). С его помощью измерялись малые приращения емкости и проводимости бислойной липидной мембраны с адсорбированными на ней бляшками, содержащими Na,K,АТФазу, вызванные быстрым освобождением АТФ из Caged-АТФ под действием вспышки УФ света. Для дальнейшего исследования этого транспорта, в частности, определения константы связывания натрия во внутриклеточном канале Na,K,АТФазы, необходимы измерения приращений емкости и проводимости, вызванных скачкообразным изменением концентрации ионов натрия. Целью данной работы было создание методики, позволяющей проводить такие измерения.

Для осуществления быстрой смены раствора использовался золотой электрод, покрытый слоем тиолов и монослоем липида, на котором адсорбировались мембранные бляшки, содержащие белок (Pintschovius et al. 1999, 814-826). Измерены зависимости приращений емкости и проводимости системы золото-тиол-липид-бляшки при изменении концентрации натрия в среде, не содержащей АТФ и ионы калия. Изменение емкости объясняется электрогенным транспортом ионов натрия во внутриклеточном канале доступа Na,K,АТФазы. Зависимость емкости от концентрации ионов натрия имела максимум при 5 мМ (см Рис. 1). Максимальное изменение емкости соответствует половинному заполнению мест связывания в белке, а соответствующая ей концентрация ионов натрия равна константе связывания этих ионов в центре связывания. Полученное нами значение согласуется с результатами, полученными ранее другими методами, в которых константа связывания составляла около 4 мМ (Apell et al. 1998, 235-245).

Подсекция «Биофизика»

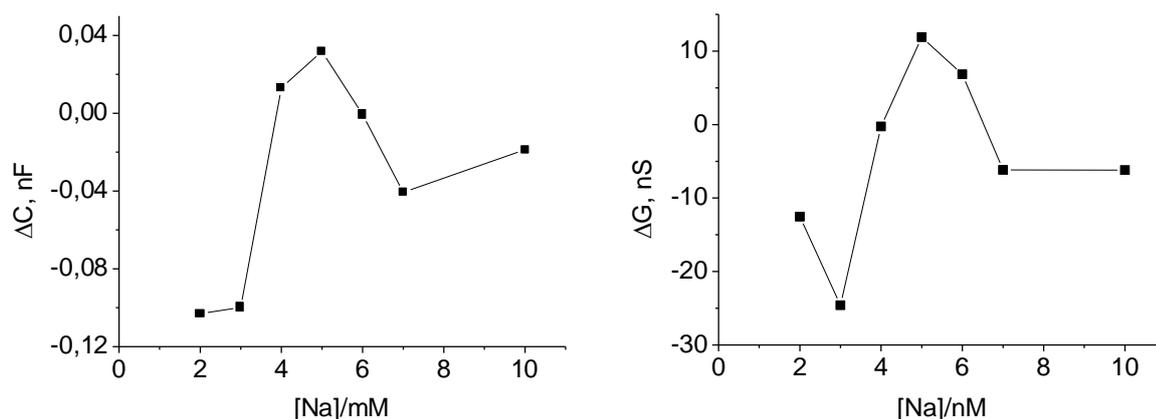


Рис. 1 Прирост проводимости (а) и ёмкости (б) при изменении концентрации натрия, относительно раствора, не содержащего натрия.

Литература

1. Apell, H. J., A. Schneeberger, and V. S. Sokolov. "Partial reactions of the Na,K-ATPase: kinetic analysis and transport properties." ACTA PHYSIOLOGICA SCANDINAVICA 643 (1998): 235-45.
2. Pintschovius, J. and K. Fendler. "Charge translocation by the Na⁺/K⁺-ATPase investigated on solid supported membranes: Rapid solution exchange with a new technique." BIOPHYSICAL JOURNAL 76.2 (1999): 814-26.
3. Sokolov, V. S., et al. "Electrogenic Transport of Sodium Ions in Cytoplasmic and Extracellular Ion Access Channels of Na⁺,K⁺-ATPase Probed by Admittance Measurement Technique." Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology, 2.2 (2008): 161-80.

Моделирование структур воды методами молекулярной динамики

Рубцова Е.В.

Студент

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
физический факультет, Москва, Россия
E-mail: katia.ru@bk.ru*

Данная работа посвящена исследованию различных структур связанной воды. Согласно существующей в настоящее время теории, жидкая вода представляет собой непрерывную тетраэдрическую сетку направленных водородных связей. Отдельно взятая же молекула воды имеет валентный угол в $104,5^\circ$, что достаточно близко к тетраэдрическому. В силу особенностей строения молекулы воды и наличия

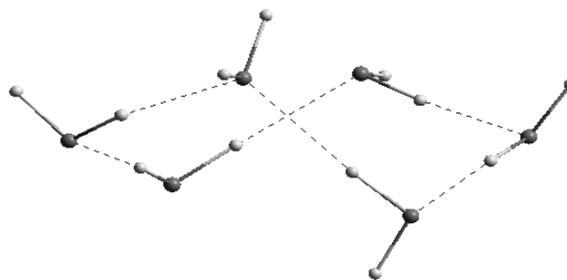


Рис.1 «Твист-ванна» с расставленными водородами

водородных связей возможно образование устойчивых структур – димеров, «твист-ванн» (рис.1) и более сложных кластеров.

Существуют множество математических моделей, описывающих взаимодействие между молекулами воды с различной степенью точности. В работе использовались два различных потенциала:

- потенциал Полтева-Маленкова

$$U_{ij} = -\frac{A_{ij}}{r_{ij}^n} + \frac{B_{ij}}{r_{ij}^{12}} + k \frac{q_i q_j}{r_{ij}}$$

- потенциал ТПЗР

$$U_{ij} = k \frac{q_i q_j}{r_{ij}} + \delta \cdot 4\epsilon \left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^6 \left(\left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^6 - 1 \right)$$

Первый потенциал представляет собой модифицированный потенциал Леннарда-Джонса, учитывающий также электростатическое взаимодействие. Этот потенциал записан для жесткой модели молекулы воды с фиксированным углом НОН, равным тетраэдрическому углу $\arccos(-1/3) \approx 109,5^\circ$, и фиксированной длиной связи ОН, равной $0,98 \text{ \AA}$. Предполагается, что атом кислорода несет заряд $-0.68e$, а каждый атом водорода – заряд $+0.34e$. Вторым также

Подсекция «Биофизика»

записан для модели жесткой воды с фиксированным углом НОН равным $104,5^\circ$ и длиной связи ОН равной $0,96\text{\AA}$. Ясно, что вид потенциала ТРЗР существенно проще, чем потенциала Полтева-Маленкова, однако он тоже достаточно неплохо описывает молекулу воды в определенном диапазоне точности.

На основе этих потенциалов были построены и рассчитаны многие структуры, малые кластеры и их фрактальные аналоги. Общим недостатком этого подхода является тот факт, что учитывается положение только атомов кислорода. Для исследования устойчивости данных структур необходимо рассчитать энергию системы с учетом водородных атомов. Это позволит оценить возможность их существования, устойчивость к тепловому движению и т.д. Методы молекулярной динамики позволяют проследить за движением отдельных молекул при образовании устойчивых состояний связанной воды.

Литература

1. В.И. Лобышев, А.Б. Соловей, Н.А. Бульенков. Компьютерный модульный дизайн параметрических структур воды. Биофизика, том 48, вып.6 (2003)
2. А.О. Марченко, Компьютерное моделирование параметрических структур воды, дипломная работа (2006)

Исследование клеточных мембран с помощью грамицидина как сенсора методом локальной фиксации потенциала

Адельянов А. М.

Аспирант

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
физический факультет, Москва, Россия
E-mail: gorod_tumanov@yahoo.com*

Живые клетки окружены бислойной липидной мембраной (БЛМ). Между внутренней и внешней стороной мембраны есть разность потенциалов – трансмембранный потенциал (ТП). БЛМ практически непроницаема для ионов. Для поддержания баланса электролитов в нее встроены белковые структуры – каналы. Каналы представляют собой отверстия в мембране, которые селективно пропускают различные ионы. Транспорт ионов через мембрану создает электрический ток. Каналы могут служить сенсорами клеточных мембран. А именно, по проводимости канала и по профилю тока судят о механических, электрических и термодинамических свойствах мембраны. Обычно для этого используют грамицидин. Это хорошо изученный пентадекапептидный антибиотик, способный пропускать моновалентные катионы.[1, 2]

Для измерения ТП и тока через каналы используют метод фиксации потенциала, далее пэтч кламп. К клеточной мембране в разных конфигурациях подводят два электрода: измерительный микроэлектрод и электрод сравнения. Есть несколько конфигураций измерений пэтч кламп, наиболее распространенные из которых “whole-cell” и “inside-out”. В “whole-cell” конфигурации измерительный микроэлектрод подводят вплотную к мембране клетки. Либо механически с помощью отрицательного давления, либо с помощью электрического импульса удаляют изолированный участок мембраны. Т. о., пипеточный микроэлектрод оказывается соединенным с клеткой (“встроенным в нее”), а электрод сравнения остается снаружи. В такой конфигурации измеряется суммарный ток всех каналов через мембрану. В конфигурации “inside-out” (внутренняя часть наружу) изолированный участок мембраны на микроэлектроде отводится и отрывается от поверхности клетки. В данной конфигурации записывают токи, протекающие через отдельные каналы. [3]

Проводимость одиночного грамицидинового канала порядка 40 пСм в 1М растворе хлорида калия. Т.о., при разности потенциалов на мембране в 100 мВ, через канал проходит $3 \cdot 10^7$ ионов K^+ в секунду. В этой работе планируется изучить влияние низкочастотного электромагнитного поля (НЧЭМП) на свойства БЛМ. Показано, что влияние НЧЭМП на живые системы имеет место. Известен факт гистерезиса механического напряжения от

Подсекция «Биофизика»

разности потенциалов на мембране для VDAC каналов (данные не опубликованы). Планируется повторить подобные эксперименты на грамицидиновых каналах. [4, 5]

Литература

1. Р. Геннис. Биомембраны: Молекулярная структура и функции. Пер. с англ. М.: Мир, 1997
2. Huey W. Huang. Deformation free energy of bilayer membrane and its effect on gramicidin channel lifetime. *Biophys J.*, v. 50, dec. 1986, p. 1061-1070.
3. Axon Ins. Inc. The axon guide for electrophysiology and biophysics laboratory techniques. Edition of Rivka Sherman-Gold, 1993.
4. E. Bamberg, P. Lauger. Channel formation kinetics of gramicidin A in lipid bilayer membrane. *J. Membrane Biol.*, v. 11, 1972, p 174-194
5. Р. Р. Асланян, С. В. Тульский, А. В. Григорян, Е. С. Бабусенко. Взаимодействие живой системы с электромагнитным полем. ВМУ, серия 16, биология, №4 2009, с. 20-23

Роль D-Asp в биологической эволюции и онтогенезе**Ивлиева А.А.**

Аспирант

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
физический факультет, Москва, Россия**E-mail: IvlievaAnna@gmail.com*

Продолжено обоснование гипотезы, согласно которой филогенетический закон Геккеля («каждый биологический вид повторяет свою эволюционную историю в ходе онтологического развития») может быть распространен на два сопоставимые с точки зрения биофизики процесса — на процесс возникновения дискретных предшественников живых клеток в древнем Океане и на начальные этапы эмбриогенеза [1]. Развивается положение: стартовые процессы, связанные с формированием двух фундаментальных асимметрий (клеточной – ионной и молекулярной – хиральной), сходны и являются сопряженными бифуркациями, дающими начало Жизни на древней Земле и индивидуальной жизни многоклеточного организма [2]. В отношении аминокислот классический принцип «хиральной чистоты биосферы» должен быть расширен на участие их D-изомеров в регуляции важнейших стадий онтогенеза, тогда как ранее в его рамках рассматривалось лишь включение L-изомеров в рибосомальный синтез белков. В процессе экспериментальной работы автором показано:

1) D-Asp повышает подвижность и выживаемость сперматозоидов быка после размораживания на 34 + 13% по сравнению с L-Asp, будучи в синергетическом взаимодействии с анионами HCO_3^- .

2) Фертильность икры и сперматозоидов рыбы вьюна повышается при добавлении в инкубационный раствор D-энантиомеров аспартата на 32,9 + 1,4% по сравнению с L-Asp и на 100,9 + 22,7% по сравнению с контролем, причем, дробление нормализуется по всем стадиям развития эмбрионов.

3) Обнаружена разница в кинетике роста популяции микроводорослей *Scenedesmus quadricauda* Vreb.: в присутствии D-Asp в инкубационной среде лаг-фаза в 3 раза продолжительнее по сравнению с контролем, однако, скорость роста популяции в фазе логарифмического роста превышает контрольную.

4) С помощью биосенсора “Эколом-05” (генно-модифицированный штамм светящихся бактерий) установлено, что L-Asp при концентрациях 5, 25, 100 и 300 нмоль/мл нетоксичен, а D-Asp нетоксичен при концентрации 5 нмоль/мл, при всех остальных – токсичен, что при концентрациях, больших 5 нмоль/мл, обусловлено ингибирующим действием D-Asp на люциферазную систему.

Автор благодарит профессора В.А.Твердислова за предложенную тему исследования и помощь в выполнении работы.

Литература

4. Твердислов В.А., Яковенко Л.В. О происхождении предшественников живой клетки, возникновении ионной и хиральной асимметрий и о филогенетическом законе. В сб. «Проблемы биологической физики» // Под ред. В.А. Твердислова. М.: ЛЕНЛАНД, стр. 10-31, 2010.
5. Твердислов В.А., Ивлиева А.А., Яковенко Л.В. «Лекции по биофизике. Ионная и хиральная асимметрии как физические факторы бигенеза и онтогенеза» // Изд. Физический факультет

Конференция «Ломоносов-2011»

Секция «Физика»

Подсекция «Биофизика»

имени М.В. Ломоносова, М. 2010, с. 84.

Воздействие дейтерированной воды на одноклеточные зеленые водоросли**Семенов Кирилл Тимурович**

Соискатель

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,

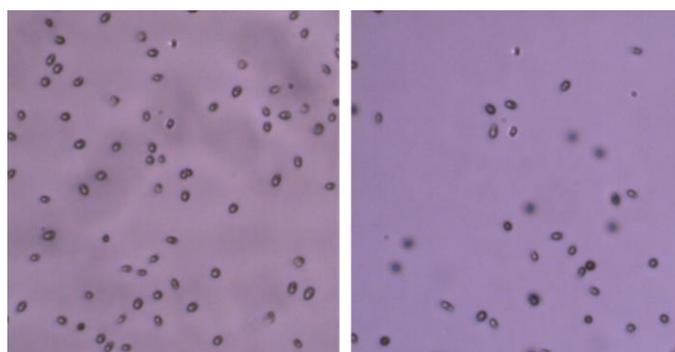
физический факультет, Москва, Россия

E-mail: vr1988@yandex.ru

Проблема исследования стрессовых воздействий на живые системы в наши дни особенно актуальна. Ухудшение экологической обстановки, урбанизация и другие факторы окружающей среды – все это наносит вред человеку, флоре и фауне. Так, накоплено значительное количество данных, свидетельствующих об ингибирующем влиянии дейтерированной воды на биологические системы. Однако, механизмы биологических эффектов воздействия этого фактора во многом остаются невыясненными.

Данная работа посвящена исследованию влияния тяжелой воды на низкоорганизованные биологические объекты – водоросли, в области концентраций, незначительно превышающей ее природное содержание.

Установлено, что D_2O в концентрации 0,5% активизирует рост клеток по сравнению с контролем (число клеток, ингибированных с 0,5% D_2O больше на 107,2%, чем в контроле). Однако, не отмечено существенного ингибирования роста водорослей 10% концентрацией D_2O . Это говорит о том, что, скорее всего либо данный тип водорослей резистентен к таким концентрациям D_2O , либо концентрация D_2O , необходимая для ингибирования роста *D. tertiolecta*, была недостаточной. Данные результаты находят свое подтверждение и в других работах, в частности в работе [2], где исследовалось активирование и ингибирование Na, K-АТФазы различными концентрациями D_2O . Это подтверждает представления о том, что малые концентрации D_2O действительно способны активировать биологические процессы, причем абсолютно разной природы. Кроме того, разумно полагать, что тяжелая вода сходным образом действует на различных иерархических уровнях, как на молекулярном, так и на клеточном.

а) Инкубирование с 0,5% D_2O б) КонтрольРис.1 Микрофотография культуры *D. Tertiolecta***Литература**

1. Никитин Д.И., Оранская М.Н., Лобышев В.И Специфичность отклика бактерий на вариации изотопного состава воды // Биофизика, 2003, т. 48, №4, стр. 678-688.

Подсекция «Биофизика»

2. Лобышев В. И., Твердислов В. А., Фогель Ю., Яковенко Л. В. «Активирование Na,K-АТФазы малыми концентрациями D₂O, ингибирование – большими»// Биофизика, 1978, т.23, №2, стр. 390-391.

**Регуляторные эффекты энантимеров аминокислот в тестовых
бактериальных системах**

Тушканов Александр Владимирович (студент 2 курса магистратуры)

Ивлиева Анна Александровна (аспирант)

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
физический факультет, Москва, Россия*

E-mail: s.tushkanov@gmail.com

В современной токсикологии активно используют новый класс аналитических систем – биологические сенсоры, которыми являются интактные клетки бактерий, обладающие способностью к биолюминесценции. Характерным отличием биолюминесценции от хемолуминесценции является участие в биолюминесцентном процессе специфического фермента люциферазы, высокий энергетический выход реакции, в определенных условиях достигающий 10% и выше. Для хемолуминесцентной реакции отношение излучаемой энергии к поглощенной на много порядков ниже. Наиболее интенсивно исследуются механизмы трансформации химической энергии в световую у люминесцентных бактерий. К настоящему времени получен достоверный материал о строении, составе и функционировании люминесцентной системы, а также по ее генетической организации.

Преимуществами тест-системы на основе бактериальной биолюминесценции являются: высокая чувствительность биосенсора к различным воздействиям, простота и быстродействие (время анализа образца 5-30 минут и более), точность и воспроизводимость (ошибка эксперимента 10%), тестирование в микрообъемах (от 0,1 до 1мл), а также корреляция с ответной реакцией, регистрируемой в других общепринятых тест-системах.

В данном направлении нами уже была выполнена работа на кафедре биофизики физического факультета, из результатов которой мы исходим. С помощью биосенсора “Эколюм-05”, разработанного в лаборатории биологически активных веществ кафедры микробиологии Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, установлено, что L-Аспарат при концентрациях 5, 25, 100 и 300 нмоль/мл нетоксичен, а D-Аспарат проявляет себя нетоксично при концентрации 5 нмоль/мл, при всех остальных - токсичен. Эффект токсичности D-Asp при концентрациях, больших 5 нмоль/мл, обусловлен ингибирующим действием D-Asp на люциферазную систему.

В настоящей работе планируется проверить полученные ранее результаты, учитывая факторы, которые могли бы повлиять на результат, а также исследовать токсические эффекты

Подсекция «Биофизика»

воздействия других L- и D-энантиомеров аминокислот (в частности, Серина) на тестовые биологические системы.

Литература

1. *Ивлиева А.А.* «Влияние L- и D-изомеров аспартата на развитие клеточных систем», дипломная работа, кафедра Биофизики физического факультета МГУ им. М.В.Ломоносова.
2. *Ревазова Ю. А., Калинина Н. В., Данилов В. С., Зарубина А. П., Соловьева Л. И.* Методические рекомендации. «Определение токсичности химических соединений, полимеров, материалов и изделий с помощью люминесцентного бактериального теста». // Зарегистрированы в Департаменте Государственного санитарно-эпидемиологического надзора РФ (№№ 11-1/131-09) от 08 июня 2000г. Гос. сан.-эпид. нормирование РФ. Минздрав. России., М., с. 18, 2000.