



Научно-образовательный медицинский кластер ЮФО «Южный»



НОМУС

мы отдаем себя науке

Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины

Материалы 75-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием



19-22 апреля 2017 г.
ВОЛГОГРАД

**Министерство здравоохранения Российской Федерации
Волгоградский государственный медицинский университет**

**Материалы 75-й открытой
научно-практической конференции
молодых ученых и студентов ВолгГМУ
с международным участием
«Актуальные проблемы
экспериментальной
и клинической медицины»**

19-22 апреля 2017 г.



Волгоград-2017

УДК 61 (06)
ББК 53
А 437

Под редакцией ЗДН РФ, академика РАН В. И. Петрова

Редакционная коллегия:

д.м.н., проф. М. Е. Стаценко
д.м.н., проф. А. В. Смирнов
к.м.н., доц. В. Л. Загребин

А 437 **Актуальные** проблемы экспериментальной и клинической медицины: Материалы 75-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием. – Волгоград: Изд-во ВолгГМУ, 2017. – 864 с.

ISBN 978-5-9652-0500-4

В сборнике изложены материалы докладов молодых ученых (интернов, ординаторов, аспирантов, врачей, преподавателей) и студентов медицинских вузов России, стран ближнего зарубежья, а также школьников.

Представленные материалы будут интересны студентам, научным сотрудникам и преподавателям медицинских и фармацевтических вузов, врачам и экологам.

УДК 61 (06)
ББК 53

ISBN 978-5-9652-0500-4

© Волгоградский государственный
медицинский университет, 2017
© Издательство ВолгГМУ, 2017

Результаты и обсуждение. Окисление компонентов среды RPMI при работе ферментативных систем приводит к увеличению кислотности и переходу фенолового красного из пурпурной формы в жёлтую, при этом происходит снижение абсорбции оранжевого света. В ходе работы было выявлено, что хранение при -80 °С не изменяет активность фракции в течение 8 недель, в то время как при -20 °С активность статистически значимо снижается с 4 недели, а при +4 °С выраженные изменения отмечаются уже со 2-й недели (см. рис. 1).

Выводы. Обнаружено, что хранение фракции S9 при -80 °С не изменяет ферментативную активность; таким образом, возможно приготовление запаса фракции S9 для последующих исследований биотрансформации.

Литература.

1. Vogel, H. G. Drug discovery and evaluation: safety and pharmacokinetic assays / H. G. Vogel // Springer – 2006. – р. 509.
2. Кнышова, Л.П. Критерии достоверности воспроизведения экспериментальной модели хронической алкогольной / Л.П. Кнышова, С.В. Поройский, А.Т. Яковлев и др. // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2016. – № 4. – С. 48-51.
3. Кнышова, Л.П. Влияние экспериментальной хронической эндогенной алкогольной интоксикации на

микрофлору кишечника / Кнышова Л.П., Поройский С.В., Яковлев А.Т., Морковин Е.И. // Вестник ВолгГМУ. – 2016. – № 4 (60). – С. 40-44.

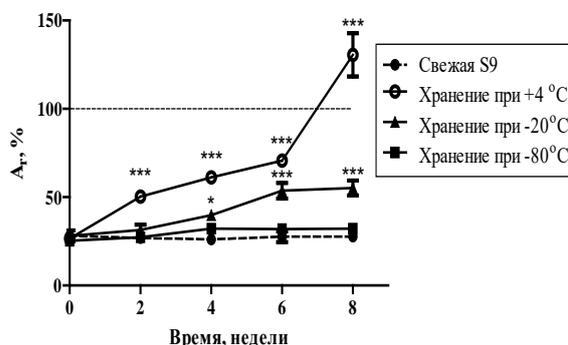


Рис. 1 - Динамика относительной абсорбции образцов фракции S9 гепатоцитов крыс при различных условиях хранения

Примечание: A_r – отношение абсорбции образцов и негативного контроля, $N=8$ в каждой точке, данные представлены как $M \pm \sigma$; * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$ с показателями свежеприготовленной фракции S9 (двухфакторный дисперсионный анализ, пост-тест Бонферрони).

УДК 61

А. О. Смирнова, Ж. И. Лебедева, А. В. Захарова
КОМПЬЮТЕРНАЯ РЕКОНСТРУКЦИЯ ФРАГМЕНТОВ СЕТИ БЕЛОК-БЕЛКОВЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ Cx26
Волгоградский государственный медицинский университет,
лаборатория геномных и протеомных исследований ГУ ВМНЦ
Научный руководитель: с.н.с., к.б.н. Ю. А. Яицкий

Введение. Белковые взаимодействия лежат в основе многих физиологических процессов, влияющих на жизнь клетки. Белки могут соединяться с друг другом с разным эффектом: без потери собственной активности, с потерей активности, с усилением активности, с приобретением новой активности (функциональной или регуляторной), с потерей возможности связываться с другими белками, с разрушением самих белков и др.

Одна из групп белков привлекает в последнее время пристальное внимание молекулярных биологов, их общее название коннексины. Роль коннексинов в клетке разнообразна, но главным является активная участие в межклеточных коммуникациях. У многоклеточных коммуникация клеток непосредственно может осуществляться через специфические каналы - **коннексоны**, пронизывающие внешние мембраны контактирующих клеток. Эти каналы, избирательно пропускают ионы и молекулы размером до 1 -1,5 кДа, обеспечивают метаболическую кооперацию соседних клеток и согласованное их функционирование внутри ткани. Коннексоны образуются белками коннексинами с различной молекулярной массой, например 26, 32, 43 кДа. Для образования межклеточного канала, в каждой из контактирующих клеток создается полуканал из шести коннексинов сгруппированных вокруг гидрофильной поры, пронизывающей мембрану. Два (полуканала) соседних клеток, расположенные

друг против друга, соединяются и образуют, таким образом, непрерывный канал между двумя клетками. Полуканалы могут состоять из разных коннексинов, при этом пропускные свойства канала будут меняться. Нарушение межклеточных коммуникаций вызывает "глухоту" клеток к регулирующим сигналам и различные патологии в организме. Например, дефекты в белке Cx26 (Gjb2) коннексине вызывают с врожденной и доречевой несиндромальной тугоухостью.

Актуальность данной работы заключается в том, что на основе поиска белков, взаимодействующих с белком коннексином Cx26 (Gjb2) составляется сеть взаимодействий – интерактом, с помощью которого предполагается прогнозировать возможные изменения сети при нарушениях (мутациях) в белке Cx26 (Gjb2). Результаты полученные в этом направлении могут быть полезны при исследовании и лечении патологий, связанных с межклеточными коммуникациями и в частности с врожденной и доречевой несиндромальной тугоухостью.

Цель исследования. Построить на основе поиска и анализа интернет баз белков фрагменты сети белок-белковых взаимодействий с участием коннексина Cx26 (Gjb2) и определить основные особенности этой сети.

Материалы. Исходным материалом служили компьютерные базы данных белков и интер-

акто́мов: UniProtKB (<http://www.uniprot.org>), BioGrid (<https://thebiogrid.org>), Database of Interacting Proteins (<http://dip.doe-mbi.ucla.edu>), IntAct (<https://ebi.ac.uk>), REACTOM (<http://www.reactome.org>).

Методы. Для объединения уже известных фрагментов сети белков гипотетическую сеть использовали:

- анализ аннотаций научных статей по молекулярной биологии, находящихся в базе PubMed
- поиск отбор в специализированных базах данных первичных данных о взаимодействующих белках,
- внесение полученной информации о белках как структурных элементах сети в сетевую модель с помощью программы CellDesigner-4.4
- построение сетевой модели с аннотацией при этом связей составляющих узлов.

Результаты исследований. В процессе построения фрагментов геной сети взаимодействия коннексина Cx26 (Gjb2) с другими белками, были использованы диаграммы и другая информация из баз данных белков, в которых отражены уже известные вариации белок-белковых взаимодействий Gjb2 (см рис. 1 и рис.2).

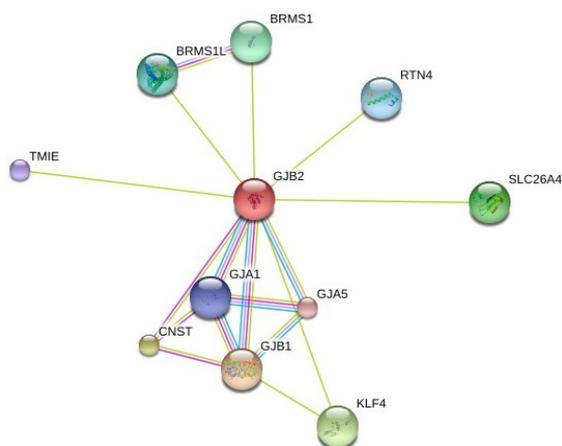


Рис. 1 - Сеть взаимодействий Cx26 (Gjb2) на ресурсе STRING

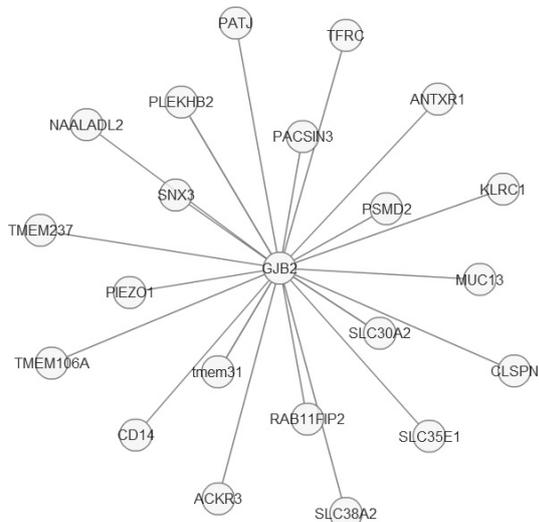


Рис 2 - Сеть взаимодействий Cx26 (Gjb2) на ресурсе IntAct

Таблица 1
Краткие аннотации белков, связанных с коннексином Gjb2 (фрагмент)

TMIE	Мембранный белок, Белок может играть определенную роль в оборот везикул. В качестве альтернативы, зрелый белок может быть локализован в плазматической мембране и служит в качестве сайта взаимодействия для других молекулами через его высоко заряженного С-концевой домена (156 а.о.)
BRMS1	Транскрипционный репрессор. Способствует HDAC1 связывания с промоторной области.
BRMS1L	Корепрессор. Участвует в гистон деацетилазы (HDAC1) -зависимой активности репрессии транскрипции. Супрессор метастаз рака молочной железы,.
RTN4	Белок Nogo (Reticulon-4) ингибитор роста эритроцитов э имеет два известных ингибирующих домена, включая amino-Nogo, на N-конце и Nogo-66, который образует внеклеточные петли молекул. Как amino-Nogo, так и Nogo-66 участвуют в ингибиторных реакциях,

Таблица 2
Аннотации связей коннексина с другими белками клетки (фрагмент)

CNST	Консорцин. Действует как связывающий партнер -рецептор транс-Гольджи (TGN), вовлеченный в транспорт коннексинов к плазматической мембране. Требуется также для ориентации коннексинов к плазматической мембране
RTN4	Белок Nogo экспрессируется во внутреннем ухе и может принимать участие в торможении функции щелевого соединения CX26

По таблицам 1, 2 и диаграмме (рис. 3) наблюдается небольшое число белков, проявляющих значительную активность.

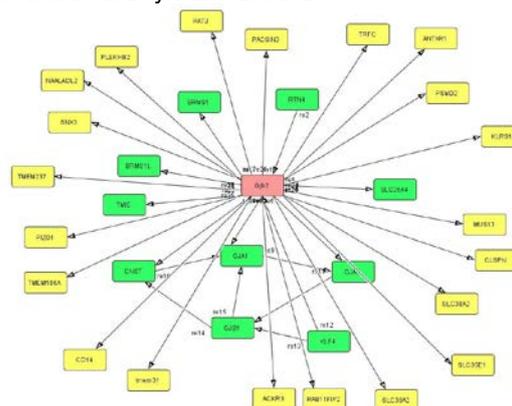


Рис.3 - Сетевая модель белок-белковых связей Gjb2 (Cx26)

Выводы. По доступным нам данным выявлено, что разнообразие взаимодействий коннексинов изучено недостаточно, чтобы сформировать белок-белковую сеть отражающую с достаточной полнотой особенности межклеточных коммуникаций объясняющих такую например патологию, как несиндромальная тугоухость.

Характер взаимодействия белков на наш взгляд свидетельствует о наличии сложных связей в системе межклеточных коммуникаций обеспечиваемых коннексинами, выявленные неординарные соотношения представляющие интерес для дальнейших исследований.

Литература.

1. Гончаров, С.С., Лихошвай В.А., Иванисенко В.А. Системная компьютерная биология. отв. ред. Н.А. Колчанов, Издательство СО РАН 2008 г
2. <https://www.fun.bio.keio.ac.jp/~funa/CellDesignerTutorial.pdf/>

УДК 61

С. А. Тутукова, М. С. Гавриш

КОНСТРУИРОВАНИЕ ЛЕНТИВИРУСНОГО ВЕКТОРА, ЭКСПРЕССИРУЮЩЕГО ГЕН КАЛЬЦИЕВОГО СЕНСОРА CASE12

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского, институт биологии и биомедицины, кафедра нейротехнологий.

Научный руководитель: с.н.с. НИИ Нейронаук, к.б.н., доц. А. А. Бабаев

Введение. Lentiviruses относятся к семейству ретровирусов, их геном включает 3 гена структурных белков (*gag*, *pol* и *env*) и 6 генов регуляторных белков (*tat*, *rev*, *vif*, *vpr*, *vpx* и *vif*). Благодаря тому, что лентивирусы способны инфицировать делящиеся и неделящиеся клетки и в них может быть включено большое количество генетического материала (до 8 тысяч пар оснований), они являются перспективным вектором для доставки генов *in vivo*[1]. Рекомбинантные лентивирусные векторы так же обеспечивают длительную экспрессию трансгена и индуцируют минимальный иммунный ответ организма хозяина[2]. Генетически кодируемый флуоресцентный биосенсор Case12 позволяет анализировать колебания внутриклеточных ионов кальция в широком диапазоне физиологических концентраций от сотен наномоль до микромоляр [3]. Вирусный вектор, несущий последовательность кальциевого сенсора Case12, поможет в оценке функционального состояния клеток нервной системы в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, так как ионы кальция контролируют и регулируют обширный диапазон клеточных процессов.

Цель. Сконструировать лентивирусный вектор, несущий ген кальциевого сенсора Case12 под промотором CMV.

Материалы и методы. ПЦР, рестрикция, лигирование, электрофорез, трансформация компетентных бактериальных клеток *E. coli* плазмидной ДНК, выделение плазмидной ДНК, культивирование клеточной линии эмбриональной почки человека HEK293FT, трансфекция кальций-фосфатным методом, выделение и очистка вирусных частиц.

Результаты и обсуждения. Сборка вирусного вектора происходит с помощью трех хелперных плазмид, кодирующих белки капсида вируса и регуляторные элементы, и шатл-плазмиды, несущей ген интереса[4]. Основой плазмиды-шатл была плаزمида pLV-CMV-GFP. В ходе работы была подобрана система праймеров Case12-Sall-fw и Case12-XbaI-rv, используемая при амплификации кальциевого сенсора Case12, в состав которых внесены сайты рестрикции для последующей рестрикции и лигирования в конструируемый вектор. Также были определены температуры и время реакции, позволяющие амплифицировать олигонук-

леотидную последовательность кальциевого сенсора Case12. Затем клонируемый фрагмент Case12 был вырезан и очищен, обработан рестриктазами Sall и XbaI, также этими рестриктазами была обработана плазмиды и проведено лигирование. Затем было выполнено трансформирование компетентных клеток *E. coli* TopTEN продуктом лигазной реакции. Далее сконструированная плазмиды была выделена из клеток *E. coli*, наличие клонируемого фрагмента Case12 в плазмиде было подтверждено с помощью реакции рестрикции и ПЦР. Сборку лентивирусного вектора осуществляли в клеточной линии эмбриональной почки человека HEK293T. Трансфекцию культуры проводили кальций-фосфатным методом. Вирусные частицы выделяли из культуральной среды и чистили с помощью ультрацентрифуги, проводили дополнительную очистку и концентрирование вируса на колонках Amicon Ultra-15 (Millipore).

Выводы. В результате данной работы была сконструирована генно-инженерным путем шатл-плазмиды, включающая последовательность Case12, наработана, очищена и с использованием хелперной системы собран лентивирусный вектор, несущий ген кальциевого сенсора Case12 под промотором CMV.

Литература.

1. Federici T., Kutner R., Zhang X.Y. et al. Comparative analysis of HIV-1-based lentiviral vectors bearing lyssavirus glycoproteins for neuronal gene transfer. *Genet. Vaccin. Ther.* 2009; 7(1). <http://dx.doi.org/10.1186/1479-0556-7-1>
2. Wanisch K., Ynez-Mucoz R.J. Integration-deficient lentiviral vectors: a slow coming of age. *Molecular Therapy* 2009; 17(8):1316 – 1332. <http://dx.doi.org/10.1038/mt.2009.122>
3. Souslova EA, Belousov VV, Lock J, Stromblad S, Kasparov S, Bolshakov AP, Pinelis VG, Labas YA, Lukyanov S, Mayr LM, Chudakov DM. Single fluorescent protein-based Ca²⁺sensors with increased dynamic range. *BMC Biotechnol.* 2007; 7:37. / pmid: 17603870
4. Pluta K., Kacprzak M.M. Use of HIV as a gene transfer vector. *Act. Biochim. Pol.* 2009; 56(4):531 – 595.

Работы студентов	
В. А. Бурсиков СТЕРЕОСПЕЦИФИЧНОСТЬ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ	600
Н. О. Греднева ИЗМЕНЕНИЕ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ	601
А. И. Еремина, С. А. Колесникова ОПТИМИЗАЦИЯ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА МЕТОДА ДНК-КОМЕТ	602
А. И. Еремина, С. А. Колесникова ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВОЗМОЖНОГО ВЛИЯНИЯ ТЕХНИКИ СНЯТИЯ МОНОСЛОЯ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР HELA И VERO НА УРОВЕНЬ СПОНТАННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК	603
Ю. М. Ковтун НЕОМЫЛЯЕМЫЕ ЛИПИДЫ КАК НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ БИОРЕГУЛЯТОРЫ	604
С. А. Колесникова, А. И. Еремина ВЫЯВЛЕНИЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК В ТЕСТЕ КОМЕТ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЕСТОЗА У КРЫС	605
М. А. Кутузов, М.А. Золотых, Л. А. Рябова БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ИТОКСИКАЦИИ НИКОТИНОМ, ВЕДУЩИЕ К ГИПЕРТРОФИИ КАРДИОМИОЦИТОВ	606
29. БИОМЕДИЦИНА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ	
Работы молодых ученых	
З. Ш. Амаханова, Н. А. Осадченко, А. Б. Токмаев, А. М. Доценко ПОГЛОЩЕНИЕ СУПЕРОКСИДНЫХ РАДИКАЛОВ СЛИЗИСТЫМ СЕКРЕТОМ БРЮХОНОГИХ МОЛЛЮСКОВ РОДА АСНАТИНА	609
А. М. Доценко, И. В. Потапова, А. С. Тарасов ВЫДЕЛЕНИЕ ФРАКЦИИ S9 ИЗ ПЕРФУЗИРУЕМОЙ ПЕЧЕНИ КРЫС	610
Н. А. Осадченко, И. В. Потапова, В. О. Бородин, Л. П. Кнышова ВЛИЯНИЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ФРАКЦИИ S9 ПЕЧЕНИ КРЫС	611
Я. С. Короткова ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ТРАНСПОРТЕРА АМИНОКИСЛОТ В ТКАНЯХ ПЛАЦЕНТЫ	612
В. Б. Халгаев, М. И. Аверин, А. С. Тарасов ОЦЕНКА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ИЗОЛИРОВАННЫХ ГАНГЛИЕВ БРЮХОНОГИХ МОЛЛЮСКОВ РОДА АСНАТИНА	613
А. Б. Токмаев, З. Ш. Амаханова, А. А. Бердникова, А. С. Шахова ХАРАКТЕРИСТИКА КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА СЛИЗИ МОЛЛЮСКОВ РОДА АСНАТИНА	614
Работы студентов	
Е. А. Алленова ВЛИЯНИЕ НЕЙРОГЛУТАМА НА МНЕСТИЧЕСКУЮ ФУНКЦИЮ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВОЗРАСТНОЙ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ	615
М. Г. Андреева ОЦЕНКА ПРОНИЦАЕМОСТИ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА И ЗОНЫ ИШЕМИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ	616
А. Н. Гуторова, О. А. Юрченко ВЛИЯНИЕ N-(4-АЦЕТОКСИБЕНЗОИЛ) ГЛИЦИНАТА КАЛИЯ НА АДФ-ИНДУЦИРОВАННУЮ АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ КРЫС IN VITRO	616
А. С. Натрова ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СУПРАХИАЗМАТИЧЕСКОГО ЯДРА КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ НОВИЗНЫ ПО УРОВНЮ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА C-FOS	617
В. О. Бородин, И. В. Потапова, Н. А. Осадченко АНАЛИЗ УСТОЙЧИВОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ФРАКЦИИ S9 ПЕЧЕНИ КРЫС В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ХРАНЕНИЯ	618
А. О. Смирнова, Ж. И. Лебедева, А. В. Захарова КОМПЬЮТЕРНАЯ РЕКОНСТРУКЦИЯ ФРАГМЕНТОВ СЕТИ БЕЛОК-БЕЛКОВЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ CX26	619
С. А. Тутукова, М. С. Гавриш КОНСТРУИРОВАНИЕ ЛЕНТИВИРУСНОГО ВЕКТОРА, ЭКСПРЕССИРУЮЩЕГО ГЕН КАЛЬЦИЕВОГО СЕНСОРА CASE12	621
30. ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ, БИОТЕХНИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ И ТЕХНОЛОГИИ	
Работы молодых ученых	
Д. Ю. Кетов СХЕМЫ ИЗМЕРЕНИЯ ВЕРОЯТНОСТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК СТАЦИОНАРНЫХ СЕГМЕНТОВ ЭЭГ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ИСПЫТАТЕЛЬНОГО СИГНАЛА	623