

Федеральное государственное бюджетное учреждение
Пушкинский научный центр Российской академии наук

Межфакультетский научно-образовательный центр
Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова в г.Пушино



**20-я Международная Пушкинская школа-конференция молодых ученых
«БИОЛОГИЯ - НАУКА XXI ВЕКА»**

The 20th INTERNATIONAL PUSHCHINO SCHOOL CONFERENCE OF YOUNG SCIENTISTS
“BIOLOGY – THE SCIENCE OF THE XXI CENTURY”

Пушино, 2016

УДК 57.08; 573.4; 574.24; 574.6; 577.1; 577.2; 577.3; 578,5; 579,6; 581.1; 591.1; 631.4

БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА: 20-я Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых (Пушино, 18 - 22 апреля 2016 г.). Сборник тезисов. Пушино, 2016.

Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века» - научное мероприятие, проводимое для ознакомления молодых исследователей с перспективами и новейшими достижениями в различных областях биологии и смежных дисциплинах.

Работа школы-конференции проводится в следующих секциях:

- Микробиология и вирусология
- Биофизика и биоинформатика
- Молекулярная биология
- Биохимия
- Почвоведение и агроэкология
- Биотехнология и приборостроение
- Физиология животных и биомедицина
- Биомедицина и биофармацевтика
- Физиология растений и фотобиология
- Экология

В программу школы-конференции, кроме устных и стендовых докладов участников, входят лекции ведущих российских и зарубежных ученых, круглые столы, мастер-классы, тренинги, экскурсии по институтам Пушинского научного центра, научные и творческие конкурсы, насыщенная культурная и спортивная программа.

ISBN 978-5-9908139-0-8

СЕКЦИЯ «МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ»

ACTINOBACTERIA WITH ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES ISOLATED FROM A POLLEN OF PINUS SYLVESTRIS GROWN AT BAIKAL SHORE

Axenov-Gribanov D.V., Voytsekhovskaya I.V., Protasov E.S., Timofeyev M.A.
Institute of Biology at Irkutsk State University, Irkutsk, Russia

Denis.axengri@gmail.com

The natural products are a chemical compounds or substances that are formed by living systems. Bacteria are responsible for synthesis of 70% natural products of pharmaceutical, medical and agricultural interests. Actinobacteria are the largest and inexhaustible source of such compounds.

The isolated ecosystems with the defined environmental conditions and inhabitants are proved to be the promising sources of new actinobacteria. The long-lasting interactions lead to development of specific functions for every member of the system including the specialization of the secondary metabolism of actinobacteria in order to fit the ecological niche. This adaptation of secondary metabolism increases the chances to find new biologically active compounds. Here, we report the isolation and characterization of eighteen actinobacteria strains isolated from male cones of *Pinus sylvestris* grown on the shore of the ancient Lake Baikal. Beside the commonly found *Streptomyces* species several minor actinobacteria of *Rhodococcus*, *Amycolatopsis* and *Micromonospora* genera were isolated. Metabolites produced by the strains grown in different mediums were tested for antimicrobial and antioxidant activities. Majority of the strains were found to produce compounds inhibiting the growth of fungi, including pathogenic *Candida albicans*. Several strains were active against Gram-positive and Gram-negative bacteria. The high proportion of biologically active strains producing antibacterial and especially antifungal compounds might reflect their employment in protecting of pollen from phytopathogens.

This study was supported by the Ministry of education and science of Russian Federation as a part of Goszadanie projects (№6.382.2014/K, 6.734.2016 DAAD, 6.696.2016 DAAD), Russian science foundation, Russian foundation for basic research (projects N 14-04-00501, 15-54-04062, 16-34-00686), Grants of Irkutsk State University for researchers and Deutscher Akademischer Austauschdienst.

BACTERIAL BREX DEFENSE SYSTEM AFFECTS REPLICATION AND TRANSCRIPTION OF PHAGE GENOMES

**Isaev A. B.^{1,2}, Tsvetkova K. M.^{1,2}, Pechenov P. Y.¹, Matlashov M. E.^{1,2},
Severinov K. V.^{1,2}**

¹Institute of Gene Biology RAS, Moscow, Russia; ²Skolkovo Institute of Science and Technology, Skolkovo, Russia

tcft18@gmail.com

BREX is a novel phage defense system widespread in bacterial and archaeal genomes. Transfer of this system to the sensitive strain provides resistance to a broad range of viruses, both virulent and temperate ones. BREX consists of 6 genes, including putative Lon-like protease, alkaline phosphatase and DNA methyltransferase, which functions were predicted by homology and were not proved by *in vitro* experiments. General mechanisms of action of BREX system are not defined by the moment and our goal was to investigate which stages of viral infection may be affected by BREX.

In this work we have used BREX gene cluster from *Escherichia coli* HS strain. When this system is being expressed from low-copy number plasmid (pBTB) in sensitive strain BW25113, it confers resistance to a spectrum of DNA-containing phages, such as T7, T4, Lambda, but not to RNA-containing phages as MS2 or Q β . Previously we shown that adsorption of phage particles to a cell is not affected by the action of BREX system. Therefore we decided to see whether accumulation of phage DNA may change in BREX active cells. Samples of total DNA were collected from culture infected with T7 phage and digested with a set of restriction endonucleases. Results were analyzed by agarose gel electrophoresis. In control cells transfected with an empty vector accumulation of phage DNA and disappearance of host DNA is visible at 30 min after addition of T7 phage at 30 C. In BREX-positive cells degradation of host DNA was significantly delayed and T7 DNA accumulation was not observed even after 3 hours of incubation with the virus. This may indicate that replication of viral genome was inhibited. To test, whether these results could be explained by inhibition of switching between early and middle/late gene classes we investigated transcription of T7 phage in BREX active cells by quantitative PCR with the use of external "tracer" RNA approach. Levels of mRNA's of T7 RNA-Polymerase (early gene), SSB (middle gene) and tail coat protein (late gene) were measured. The total level of viral transcription in BREX active cells was two orders of magnitude lower, comparing to control cells, but no specific shift in timing of genes expression was observed.

From our data we conclude that BREX system acts at early stages of viral infection. Since BREX does not affect phage adsorption, main purpose of the following experiments is to examine injection of viral DNA in host with BREX active cells.

The reported study was funded by RFBR according to the research project No. 16-34-00656 мол_а.

HANTAVIRUS N PROTEIN CO-LOCALIZES WITH RAB 5 PROTEIN OF THE EARLY ENDOSOME

Muyangwa M., Garanina E.E., Khaiboullina S.F., Rizvanov A.A.

Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russia

musalwam@yahoo.co.uk

Hantaviruses belong to the Bunyaviridae family. They have a negative sense, single stranded RNA genome. This genome consists of three segments designated small (S), medium (M) and large (L), which encode Nucleocapsid (N) protein, envelope glycoproteins (G1 and G2) and an RNA dependant RNA polymerase, respectively. Contact with infected animal waste results in Hantavirus infection. Depending on the virus strain, three infections are caused by hantaviruses; hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS), hantavirus cardiopulmonary syndrome (HCPS) and nephropathia epidemica (NE). The mortality rate for HFRS and HCPS exceed 10% and 60%, respectively.

Hantaviruses utilize intracellular traffic pathways for virus assembly and budding. One of the mechanisms used involve endosomes. Endosomes are membrane-delimited intracellular transport carriers.

In this study, we use 3 recombinant lentiviruses (LV) encoding the S segment of HTNV, PHV, and SNV hantaviruses constructed by us to study co-localization of the developed constructs with the early endosome *in vitro*. Recombinant LV was constructed by co-transfecting HEK293-FT cells with three plasmids; lentiviral plasmid based on the pLX303 vector encoding the S segment, psPAX2 (packaging plasmid) and pCMV-VSV-G (envelope plasmid).

Infection of A459 cells with the specific lentivirus construct (MOI=10) expressing N protein was conducted 48 hours after transfection with either DsRed Rab 5 DN or DsRed Rab 5WT plasmid. Cell monolayers were harvested 24, 48, 72 and 98 hours post infection for further analysis by immunocytochemistry and western blot. A polyclonal rabbit anti-ANDV antibody exerting cross reactivity with the produced viruses and a secondary fluorescent antibody (goat anti-rabbit Alexa Flour 488, Invitrogen) were used to visualize N protein. Imaging was conducted using a Carl Zeiss LSM 780 confocal microscope. Western blot was conducted using the polyclonal rabbit anti-ANDV antibody (exerting cross reactivity with the produced viruses) and goat anti-rabbit IgG-HRP antibodies (Santa cruz).

The level of N protein expression was twice as much in WT Rab 5 expressing cells than in DN Rab 5 expressing cells. These results show that hantavirus N protein expression depends on correct functioning of the early endosome. This was true for all the Hantavirus strains used.

GREEN MICROALGA *DUNALIELLA SALINA* – PROMISING SOURCE OF ORGANIC GERMANIUM

Zosim L.S.¹, Bivol C.M.², Elenciuc D.I.³, Bafir L.M.², Djur S.²

¹Moldova State University, Chisinau, Republic of Moldova; ²Institute of Microbiology and Biotechnology of ASM, Chisinau, Republic of Moldova; ³University of the Academy of Sciences of Moldova, Chisinau, Republic of Moldova

zosim_liliana@yahoo.fr

The conversion of germanium from toxic chemical compounds to germanium metabolised in the easily assimilated compounds by the human body using microorganisms as bio-transformers, is an alternative way to obtain effective remedies with anticancer effect. Previously results obtained in the "Ficobiotechnology" laboratory from the Moldova State University revealed the ability of *Spirulina* sp. to accumulate germanium in biomass at the cultivation in the presence of Ge(IV) compounds. In the specialized literature the studies about the influence of organic compounds of germanium on the accumulation of the metal in the biomass of microalga *Dunaliella salina* are missing. Thus, the cultivation of *D. salina* in the presence of some organic compounds of germanium in order to obtain biomass enriched with germanium and other bioactive substances, presents interest.

The object of study was the strain of microalgae *Dunaliella salina* CNM-AV-02, deposited in the National Collection of Nonpathogenic Microorganisms of the Institute of Microbiology and Biotechnology of ASM. The temperature of cultivation was 27-29°C. The cultivation was performed at 5000 lx and 3500 lx. As a source of germanium inorganic compound GeO₂ and the coordination compounds of Ge (IV) coded FM-30 in the concentrations of 15-30mg/L was used.

The results showed that in all experimental variants (the cultivation under normal lighting 3500lx and heavy lighting 5000lx), the content of germanium in biomass increased with the increase of the concentration of the compound in the cultivation medium of *D. salina*, reaching the maximal values at the concentration of 30 mg/L. The

кг/сут. Витамин В₁, пируват определяли в молоке, плазме крови и моче, в плазме крови определяли – активность ПК и в присутствии НАД лактагдгидрогеназы (ЛДГ). В моче определяли концентрацию ацетальдегида, рассматривая его как продукт недоокисления пирувата.

С повышением удоя наблюдалось увеличение тотального выделения В₁ с молоком. Параллельно с этим происходило уменьшение выделения его с мочой ($r=-0,709$, $p=0,033$). Для данного вида животных наблюдалась низкая активность ПК и ЛДГ ($25,85 \pm 7,24$ Е/л и $293,02 \pm 43,35$ Е/л), что дает основание предположить о снижении глюконеогенеза из пирувата и уменьшении его вклада в виде оксалоацетата в поддержание реакций цикла Кребса. При этом с повышением удоя происходило увеличение выделения пирувата с мочой ($r=,745$, $p=0,022$). Данный факт косвенно свидетельствует о дефиците витамина В₁, что способствовало снижению окисления пирувата пируватдегидрогеназой, вследствие чего он, как токсическое вещество, стал интенсивно выделяться почками. Однако, высокая концентрация ацетальдегида в моче, отсутствие корреляции между ним и тиамином и наличие отрицательной корреляционной связи с концентрацией пирувата в плазме крови ($r=-0,719$, $p=0,029$), косвенно свидетельствует о недостатке, в первую очередь, не тиамин, а рибофлавина – кофермента третьего фермента ПДГ комплекса.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ЦИСПЛАТИНА НА АКТИВНОСТЬ ПОЛИ(АДФ-РИБОЗО)ПОЛИМЕРАЗЫ 1 В ЯДРАХ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ КРЫС

Асатрян А.Л., Арцруни И.Г., Матинян К.С., Геворкян Э.С.
Ереванский государственный университет, Ереван, Армения

anushassatryan@gmail.com

В настоящее время совместное применение лекарственных препаратов является общепринятой практикой. Использование фармакологических ингибиторов поли(АДФ-рибозо)полимеразы 1 (ПАРП 1) усиливает терапевтический эффект цисплатина при лечении онкологических заболеваний. Принимая во внимание, что действие лекарственных препаратов имеет выраженную возрастную зависимость, нами было исследовано действие конкурентного ингибитора ПАРП 1 бензамида и аллостерического ингибитора - АТФ на активность фермента в ядрах клеток печени крыс - самцов препубертантного (6 недель) и пубертантного (10 недель) возраста до и после введения животным цисплатина (48 ч, 10мг/1000г веса).

Показано, что в процессе роста животных исходная активность ПАРП 1 в клетках печени уменьшается на 60%. После введения цисплатина активность фермента в ядрах клеток печени 6-и недельных животных уменьшается в 3 раза, в то время как активность ПАРП 1 у 10-и недельных крыс увеличивается вдвое. Возрастная зависимость также была выявлена при изучении действия ингибиторов ПАРП 1. Показано, что эффективность конкурентного ингибитора бензамида выше у крыс старшей возрастной группы как в контроле, так и после действия цисплатина. Эффективность физиологических концентраций АТФ значительно ниже у 10-и недельных крыс. Введение животным цисплатина резко увеличивает эффективность АТФ у 10-и недельных крыс, не влияя на эффективность ингибитора в ядрах 6-и недельных крыс.

Полученные нами данные указывают на необходимость учета возрастных особенностей совместного действия противоопухолевых препаратов, применяемых в клинике.

N-АЦИЛДОФАМИНЫ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Ашба А.М.^{1,2}

¹ФГБУН ИБХ РАН им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва, Россия; ²ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

alyafonya@mail.ru

N-ацилдофамины представляют собой семейство эндогенных амидных производных жирных кислот, являющихся важными биорегуляторами и обладающих широким спектром действия, участвуя во многих физиологических и биохимических процессах. Ацилдофамины оказывают цитотоксическое действие на трансформированные клетки, однако механизм его реализации неизвестен. Целью данного исследования было определение влияния структуры жирнокислотной и дофаминовой частей молекулы ацилдофаминов на процессы клеточной гибели в клетках феохромоцитомы РС12, определение возможных путей реализации этого эффекта и выявление возможности использовать N-ацилдофамины как новые цитотоксические и цитостатические противоопухолевые препараты.

Клетки растили в стандартной среде, рекомендованной АТСС. Использовали соединения, синтезированные из соответствующих жирных кислот и дофамина. Оценку пролиферации и гибели клеток проводили с помощью МТТ- и LDH-тестов, для выяснения механизма цитотоксического действия ацилдофаминов проводили ингибиторный анализ с использованием ингибиторов каннабиноидных рецепторов 1 и 2 типа, ванилоидного, дофаминового рецепторов, PPAR-гамма, катехоламиновых