

НАУКИ О ЖИЗНИ

Институте цитологии и генетики проведено исследование влияния измененного уровня основных гонадотропинов насекомых, ювенильного гормона (ЮГ) и 20-гидроксиэкдизона (20Э) на репродуктивную систему. Проверялась гипотеза о том, что ход репродукции насекомых в нормальных условиях и изменение его при стрессе определяются балансом ЮГ и 20Э.

Обнаружено, что самки *D. virilis* дикого типа отвечают на стрессирующее воздействие снижением деградации ЮГ и повышением содержания 20Э, причем динамика этих изменений совпадает с динамикой снижения плодовитости, вызванного задержкой откладки зрелых яиц и деградацией части ооцитов на ранних стадиях развития. В 2003 г. в рамках настоящего проекта показано, что у мутантной линии 147 *D. virilis*, характеризующейся в нормальных условиях сниженным уровнем метаболизма ЮГ, повышенным содержанием 20Э, сниженной плодовитостью и резко измененной стресс-реакцией, тепловой стресс вызывает повышение уровня 20Э и деградацию части ранних вителлогенических ооцитов, но не изменяет метаболизм ЮГ и не приводит к накоплению зрелых ооцитов и задержке откладки яиц. Вместе с тем голодовой стресс, как обнаружено в отчетный период, изменяет метаболизм ЮГ у этих самок и вызывает накопление зрелых яиц и задержку их откладки (рис. 1). Продемонстрировано, что экспериментальное повышение уровня ЮГ перед началом стрессирования приводит к резкому возрастанию плодовитости после окончания стресса. Динамики деградации ЮГ и плодовитости сходны при стрессе и обработке экзогенным ЮГ. Экспериментальное повышение титра 20Э у молодых самок дикого типа *D. virilis* изменяет уровень ЮГ (опосредованно через систему метаболизма дофамина) и резко снижает плодовитость, делая ее сопоставимой с плодовитостью мутантной линии 147 с повышенным эндогенным уровнем 20Э. Экспериментальное повышение титра 20Э у молодых самок дикого типа *D. virilis* также приводит к повышению титра дофамина и снижению деградации ЮГ, тогда как у зрелых самок этой линии кормление 20Э вызывает снижение как уровня дофамина, так и деградации ЮГ. Учитывая данные об онтогенетической динамике влияния дофамина на метаболизм ЮГ, полученные в рамках данного проекта в 2003 г. (дофамин подавляет деградацию ЮГ у молодых самок дрозофилы и стимулирует ее у зрелых), можно предположить, что 20Э влияет на метаболизм ЮГ опосредованно, через систему метаболизма дофамина.

Таким образом, полученные данные впервые демонстрируют, что: 1) механизм ответа репродуктивной системы на стрессорные факторы различной природы у самок *Drosophila* одинаков, и изменения в ходе оогенеза являются следствием изменения содержания гонадотропинов — повышение титра 20Э приводит к деградации части ранних вителлогенических ооцитов и задержке созревания остальных, а снижение деградации ЮГ — к накоплению зрелых ооцитов и задержке откладки яиц; 2) 20Э регулирует метаболизм ЮГ и делает это опосредованно, через систему дофамина.

В том же институте исследованы вариации структуры и транскрипции митохондриальной ДНК растений сахарной свеклы с различными фенотипическими проявлениями признака цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС). У сахарной свеклы в развитии ЦМС Оуэновского типа участвует митохондриальная ДНК S-типа, которая по сравнению с нормальной (N-типа) характеризуется множественными изменениями структуры и экспрессии. Связь конкретных перестроек мтДНК S-типа с развитием ЦМС не установлена, и количественные оценки соотношений между субгеномными формами мтДНК сахарной свеклы никем не проводились.

При помощи ПЦР на мтДНК с вырожденными праймерами, подобранными компьютерным анализом, в сочетании с Нозерн-блоттингом выявлено два маркера, соответствующих ранее не описанным структурным вариациям мтДНК и относящихся к разным наборам транскриптов в N- и S-цитоплазме. Первый маркер соответствует *orf215*. Рестрикционное картирование соответствующего участка мтДНК S-типа около 15 т.п.н выявило существенные отличия от N-типа. Второй включает фрагменты генов *atp9*, *grs3* и *orf246* в неканоническом взаимном расположении, при этом копия *atp9* усечена на 77 нуклеотидов с 5'-конца. Оба альтернативных варианта геномного окружения *grs3* присутствовали во всех

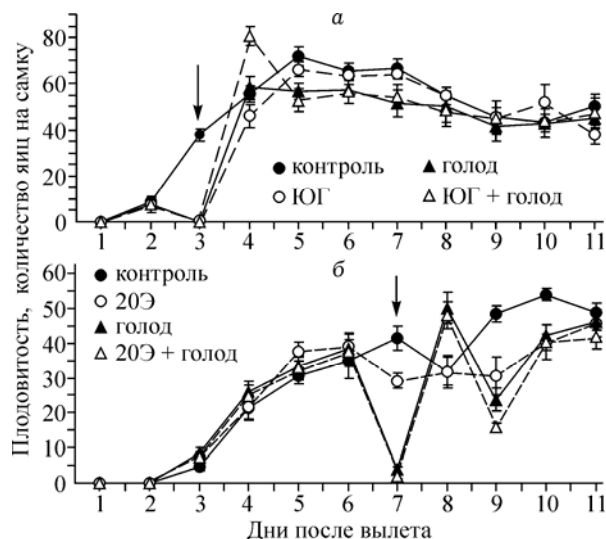


Рис. 1. Влияние голодового стресса и экспериментального повышения уровня ЮГ (а) и 20Э (б) на плодовитость самок дикого типа *D. virilis* (линия 101). День обработки показан стрелкой.

проанализированных образцах мтДНК с N-цитоплазмой, в образцах с мтДНК S-типа не выявлялся ни один из вариантов. В мтДНК N-типа субгеномная форма с усеченным геном *atp9* содержится в количествах, меньших на порядок, чем в нормальном варианте. Нозерн-блот-гибридизация обоих маркеров с препаратами мтРНК растений с S-типом цитоплазмы и различными фенотипами по пыльце не выявила различий.

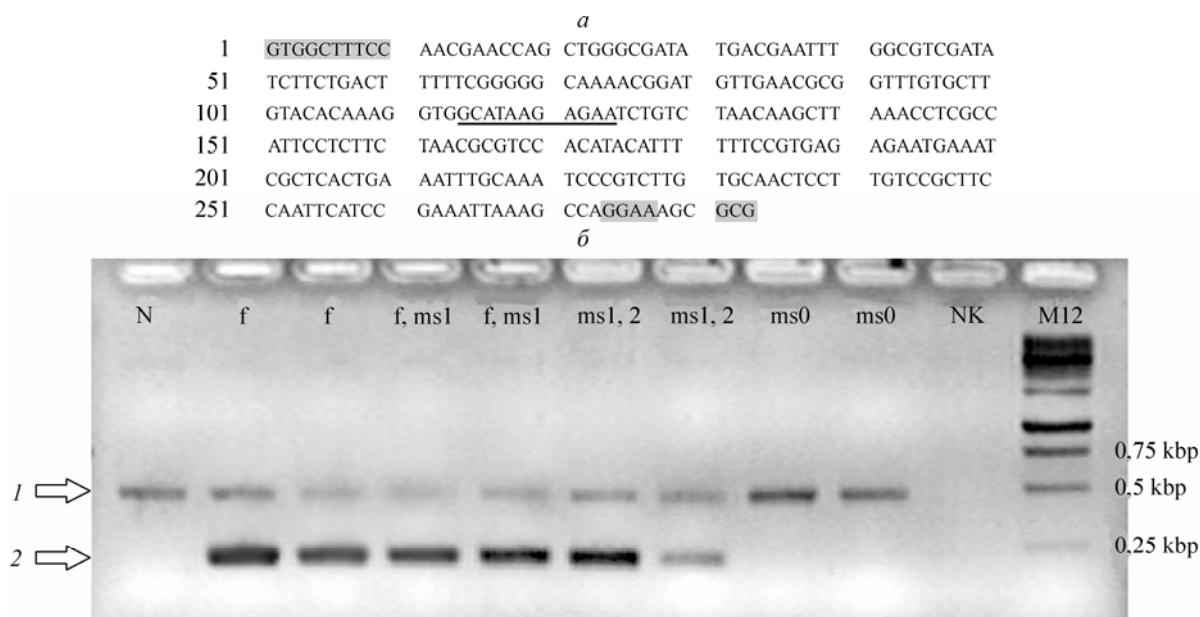


Рис. 2. Нуклеотидная последовательность маркера, выявленного мтРНК дисплеем, растений сахарной свеклы с различными пыльцевыми фенотипами, выделены последовательности праймеров и промоторный консенсус (а). Коамплификация кДНК из растений с различными пыльцевыми фенотипами со специфическими праймерами на неизвестную последовательность (2) и кодирующую часть гена *gtn26*, взятого в качестве стандарта (1). Фенотипы растений указаны сверху. Растения, у которых указаны два фенотипа, — мозаики. Праймеры на *gtn26* добавлялись в реакционную смесь после 4-го из 30-го циклов амплификации (б).

Проведен дифференциальный дисплей мтРНК растений из апозиготических потомств с различными ЦМС-фенотипами на фоне S-цитоплазмы. Получено три маркера, предпочтительно амплифицируемых у ревертантов к фертильности в одной из выборок, один из них клонирован и секвенирован (рис. 2). Его последовательность высокогомологична с последовательностью РНК-вируса мозаики свеклы и содержит консенсус митохондриального промотора двудольных. Наиболее вероятно, что найденная последовательность соответствует субгеномной молекуле.

При помощи ПЦР в обычном варианте (*end-point*) и в реальном времени, а также дот-гибридизации проведена оценка уровня гетероплазмы по ряду цитоплазмспецифических маркерных последовательностей в более чем 200 растениях из потомств сахарной свеклы, расщепляющихся по признаку ЦМС. Показано, что гетероплазмия чаще регистрируется в потомствах растений с N-цитоплазмой, чем в потомствах растений с S-цитоплазмой; наблюдаются вариации в соотношениях гомологичных последовательностей, соответствующих N- и S-типам мтДНК, но не выявлено корреляции соотношения этих последовательностей с фенотипом растения (или побега в случае растений с мозаичным пыльцевым фенотипом). Соотношения дозы маркеров, соответствующих различным типам мтДНК (S- и N-) в гетероплазматичных образцах, могут составлять 1 : 50—1 : 100. Из полученных и литературных данных сделан вывод, что в некоторых случаях, описываемых как Оуэновская ЦМС, не требуется присутствие существенных количеств мтДНК S-типа в зрелых тканях растения, а реверсия к фертильности возможна не только с участием описанных Rf-генов, но и под влиянием средовых факторов либо неизвестных ядерных генетических детерминант.

В том же институте на основе микросателлитного анализа геномов злаков получены следующие результаты.

Проведено насыщение геномной карты ржи (*Secale cereale* L.) 99 новыми микросателлитными маркерами. Полученные маркеры могут широко использоваться в дальнейшем для картирования генов и изучения генетического разнообразия ржи, а также в сравнительной геномике злаков (рис. 3).

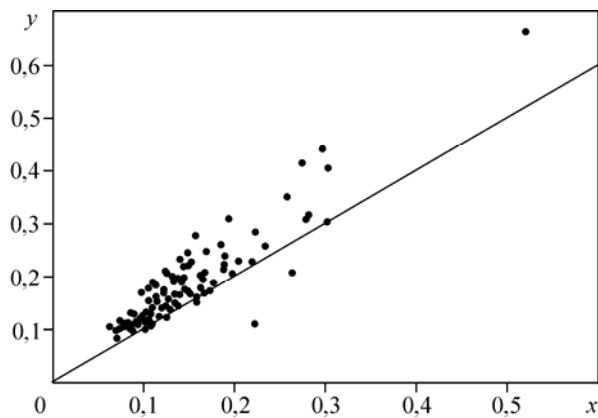


Рис. 5. Сравнение точности pq предсказания для набора из 100 тестовых белков. По оси x отложены значения точности предсказания контактов для алгоритма без учета информации о контактных числах остатков (AN0), по оси y — значения точности предсказания алгоритма с учетом информации о контактных числах остатков (ANC).

С помощью пакета программ CRASP проведен анализ вклада координированных замен аминокислот в постоянство интегральных характеристик АТФ-связывающей петли протеин-киназ. Показано, что для ряда характеристик, отражающих заряд, гидрофобность и частоты встречаемости в β -структуре, координированные замены вносят дополнительный вклад, обеспечивающий консервативность суммарных величин этих свойств для сайта. Эти результаты показывают, что важный вклад в формирование комплекса каталитического домена и АТФ вносят неспецифические дальние взаимодействия (гидрофобные и электростатические) остатков петли, при этом важную роль играет поддержание в ходе эволюции β -структурной конформации этих остатков.

В том же институте построены сравнительные хромосомные карты представителей виверровых, гиеновых, скунсов и енотовых. Пэйнтинг-пробы хромосом каменной куницы (*Martes foina*) локализованы на хромосомах четырех видов скунсов (Mephitidae) и енота (*Procyon lotor*, Procyonidae). С помощью различных дифференциальных окрасок хромосом впервые дано полное описание кариотипов скунсов.

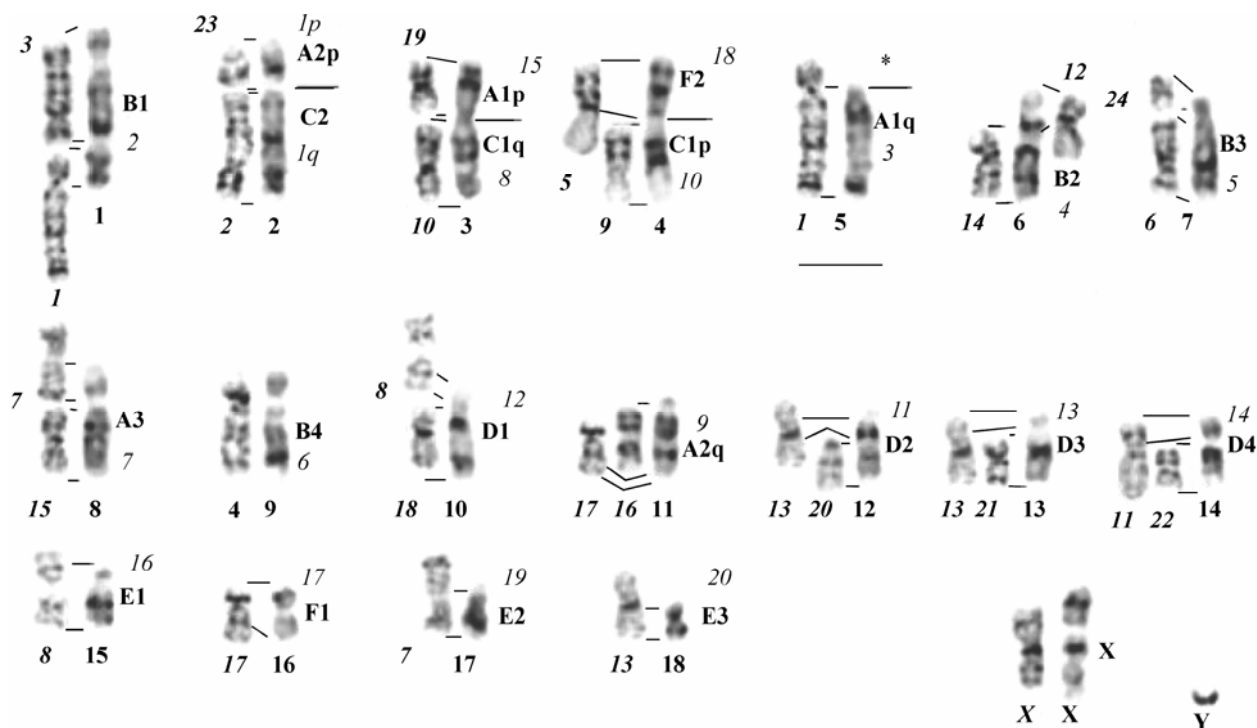


Рис. 6. Карта гомологий хромосом каменной куницы, полосатого скунса, кошки и предкового кариотипа хищных. Жирные цифры — хромосомы каменной куницы; жирные курсивные — хромосомы полосатого скунса; курсивные — хромосомы предка хищных; буквы с цифрами — хромосомы кошки.

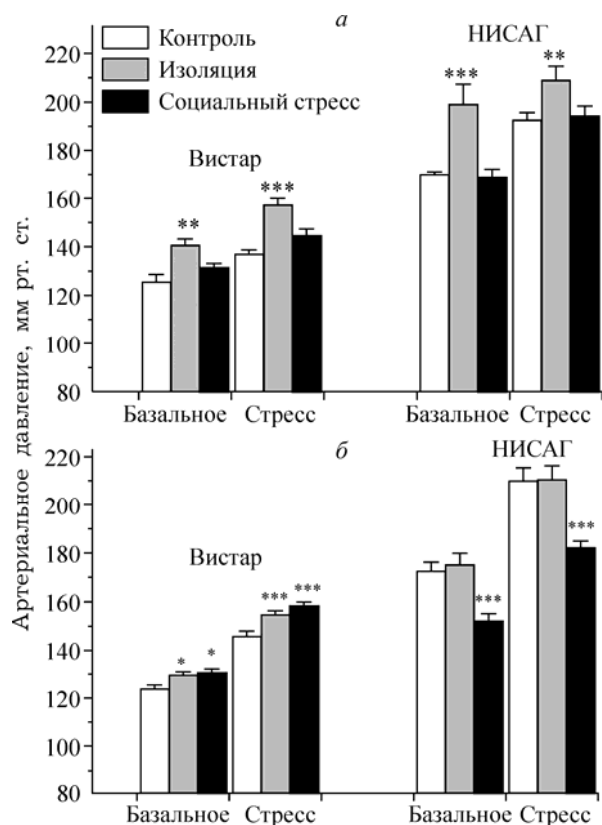


Рис. 7. Систолическое артериальное давление ($M \pm m$) в состоянии покоя (базальное) и при остром стрессе у молодых (а) и взрослых (б) крыс линий Вистар и НИСАГ, подвергавшихся в ювенильном периоде воздействию социальной нестабильности или социальной изоляции. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ по сравнению с контрольными крысами.

Метод сравнительного хромосомного пэинтинга показал, что кариотипы скунсов характеризуются определенными маркерными слияниями предковых хромосом и отличаются от кариотипов других мустелид. На рис. 6 представлена карта гомологий хромосом каменной куницы, полосатого скунса, кошки и предкового кариотипа хищных. Полученные данные позволяют утверждать, что роды скунсов заслуживают статуса отдельного семейства — Mephitidae. По данным проведенного сравнительного хромосомного пэинтинга кариотип енота идентичен кариотипу каменной куницы и, таким образом, представляет собой практически неизменный предковый кариотип мустелоидной ветви хищных.

В том же институте изучено непосредственное и отдаленное влияние социальной изоляции и социальной нестабильности в ювенильном периоде (с 4-й по 7-ю неделю жизни) на общее развитие, эндокринный и психоэмоциональный статус, проявление полового возбуждения и артериальное давление у нормотензивных крыс Вистар и крыс с наследственной индуцируемой стрессом артериальной гипертензией (линия НИСАГ). Воздействия социального характера не повлияли на параметры общего развития. Изменения сенсомоторной реакции, поведения, связанного с проявлением тревожности и депрессии, функциональной активности гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной зависели от возраста крыс, их генотипа и характера воздействий (рис. 7). Социальная изоляция вызвала временное повышение артериального давления у молодых крыс обеих линий, которое частично обусловлено вынужденной гипокинезией, поскольку возможность физического тренинга при наличии бегового колеса в клетке у изолированной крысы

нивелировала гипертензивный эффект изоляции у молодых крыс.

Своеобразный психофизический тренинг, обусловленный социальной нестабильностью в ювенильном периоде, сопровождался снижением базального и стрессорного артериального давления у взрослых крыс с наследственной артериальной гипертензией.

В Институте цитологии и генетики разработан метод определения принадлежности того или иного белка к классу пространственной структуры (α -спиральные белки, β -структурные, α/β и $\alpha+\beta$ в определении классификации SCOP) на основании его аминокислотного состава. В качестве признаков, на основании которых происходит классификация, использованы величины относительного содержания каждой аминокислоты в конкретном белке. Для разработки методов определения принадлежности белка к классу пространственной структуры применен математический метод нейронных сетей.

На примере белков глобинового фолда применен алгоритм сокращения числа параметров нейронной сети, основанный на устранении узлов и связей, вносящих минимальный вклад в итоговое распознавание

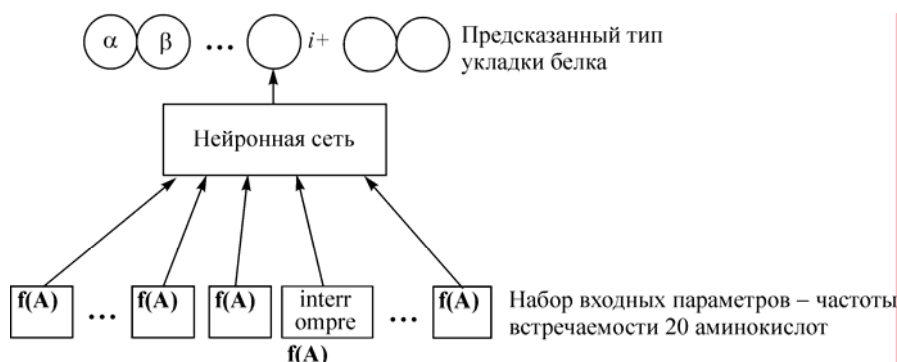


Рис. 8. Алгоритм предсказания типа укладки белка на основе нейронной сети. Входными параметрами являются частота встречаемости 20 аминокислот в белке. На выходе программа выдает тип белковой укладки.

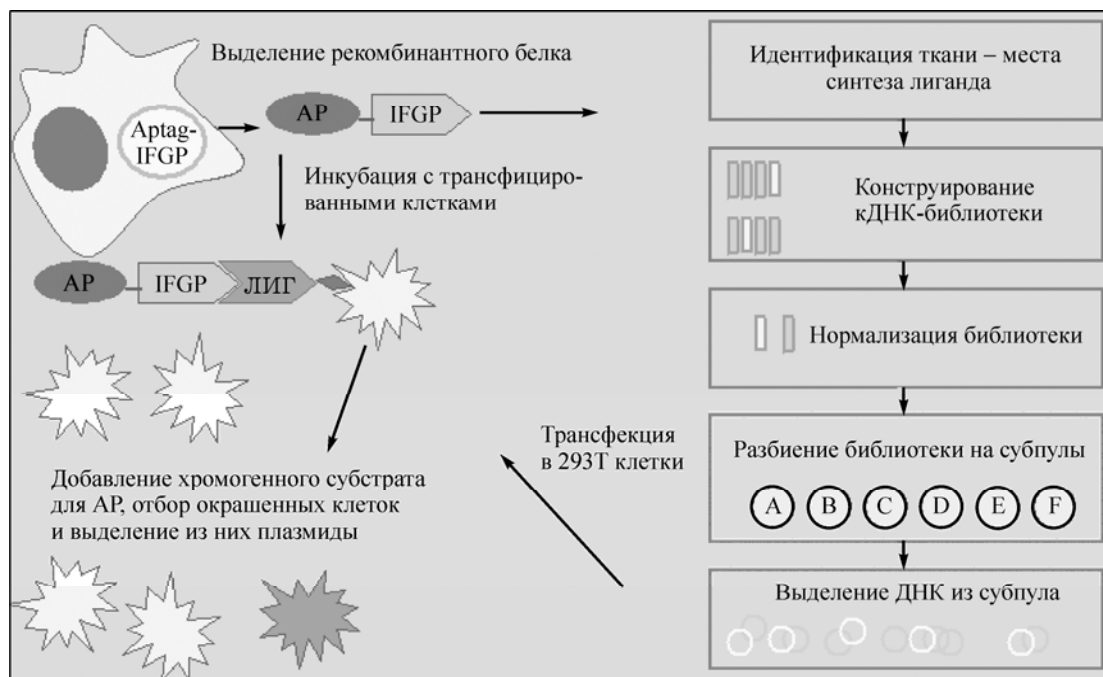


Рис. 9. Схема поиска лиганда.

(network truncating) (рис. 8). Таким образом, удалось уменьшить количество параметров нейронной сети до нескольких сотен, не имеющих прозрачного биологического толкования, но обеспечивающих эффективное распознавание. На тестовых выборках эффективность распознавания составила около 70 %.

В том же институте для идентификации лигандов IFGP рецепторов (рис. 9) получены конструкции в экспрессионном эукариотическом векторе pAP-Tag (GeneHunter, USA), кодирующие химерные секретируемые белки IFGP1, 2 и 6, слитые с термостабильной щелочной фосфатазой (AP). Этими конструкциями трансфицированы фибробластоидные клетки линии 293Т. Наибольшая эффективность наработки химерного белка отмечена в случае IFGP1. Способность IFGP1-AP связывать какие-либо нативные белки человека подтверждена с помощью ферментативного окрашивания криосрезов. 293Т-клетки трансфицированы плазмидной кДНК-библиотекой из селезенки. К трансфицированным клеткам добавляли IFGP1-AP и затем выявляли связавшие химерный белок клетки по ферментативной активности AP. С помощью микроманипулятора планируется отобрать окрашенные клетки, выделить из них плазмиды и наработать, затем снова трансфицировать ими эукариотические клетки. Этот цикл будет повторяться, пока не будет получен единичный положительный клон, содержащий кДНК-последовательность, кодирующую IFGP1-связывающий белок.

Коллективом молодых сотрудников того же института выполнен детальный анализ изменчивости мтДНК и HLA-генов у 211 коренных жителей Северной Сибири и алеутов Командорских островов — 98 манси, 45 нганасан, 38 кетов и 30 алеутов. Установлено, что митохондриальный генофонд древних популяций Западной и Средней Сибири (манси, кетов и нганасан) отличается уникальная комбинация западно-евразийских (H, H2, H3, H8, U2, U4, U5, U7, J2, W) и восточно-евразийских (A, C, D, Z) гаплогрупп. Западно-евразийские гаплогруппы обнаружены у 63,3 % манси, 47,3 % кетов и 33,4 % энцев/нганасан, тогда как на долю гаплогрупп A, C и D, общих для Северо-Восточной Евразии и Америки, приходится соответственно 28,6, 26,3 и 62,5 %.

Впервые описаны новые гаплотипы в составе гаплогрупп H, T, T1, C и W: вариант гаплогруппы H (H*), отличающийся мутациями C16169T, C16184T и A73G; варианты гаплогрупп T и T1 с потерей сайта рестрикции 13704 BstNI; вариант гаплогруппы C без характерной замены в позиции 16223; вариант гаплогруппы W с характерными группоспецифическими заменами G5046A, C11674T и T12414C в кодирующем районе.

Впервые в уралоязычных популяциях обнаружена «палеолитическая» гаплогруппа U4 с беспрецедентно высокой частотой — 28,9 % у кетов, 20,8 % у нганасан и 16,3 % у манси.

Показано, что вероятность идентичности гаплотипов мтДНК между уралоязычными манси и нганасанами составила 0,26 %, между манси и кетами — 0,05 % и между кетами и нганасанами — 0,00 %.

Выявленная структура гаплогрупп мтДНК, результаты анализа изменчивости HLA-генов и филогенетического анализа согласуются с гипотезой основателя отечественной антропогенетики В. В. Бунака о «самостоятельной евразийской формации», сложившейся в междуречье Оби и Енисея на основе первоначальных миграций Homo sapiens sapiens из Передней Азии.

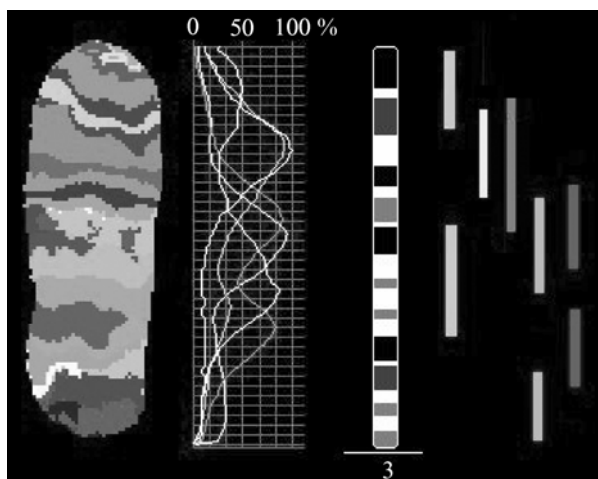


Рис. 10. Набор библиотек для многоцветного бэндинга хромосомы 3 мыши.

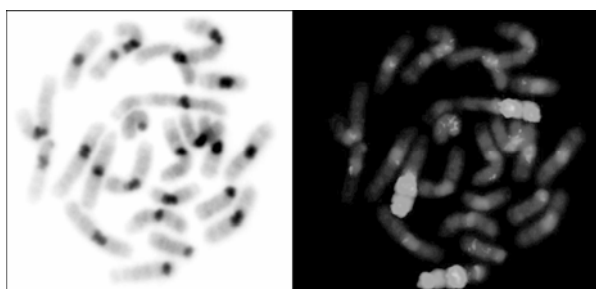


Рис. 11. Исследование хромосомы 6 мыши линии WMP2 с помощью МСВ.

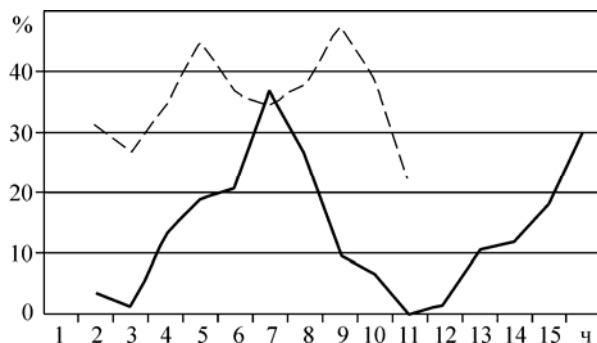


Рис. 12. Результаты экспериментов доброкачественной опухоли мутации *fat*.

примыкающей с 3'-стороны к кодону в А-участке 80S рибосомы человека. Для этого использованы аналоги мРНК — производные олигорибонуклеотидов со сшивающей перфторфенилазидогруппой на остатке гуанозина или уридина в седьмом, девятом или двенадцатом положении (рис. 13).

Показано, что все аналоги сшиваются с нуклеотидами А1823, А1824 и А1825, принадлежащими 3'-минидомену 18S рРНК, и районом G626, расположенным в 5'-домене, которые, как показано ранее, формируют декодирующий центр. Обнаружен новый универсальный элемент строения мРНК-связывающего центра рибосомы — нуклеотид С1698 (в случае 18S рРНК человека). Сделан вывод, что мРНК образует петлю между кодоном в А-участке и прилегающей к нему с 3'-стороны частью мРНК.

В этом же институте впервые синтезированы искусственные рибонуклеазы — конъюгаты пептида $(LR)_4G$ с олигодезоксирибонуклеотидами, проявляющие уникальную специфичность действия на РНК: расщепляющие РНК преимущественно по связям в последовательностях G-X идентично специфичности РНК T1. Показано, что олигонуклеотид и пептид выполняют нетипичные для них функции: пептид отвечает за связывание с РНК и катализ расщепления фосфодиэфирной связи, а олигонуклеотид выполняет роль адаптора активной конформации пептида и модулирует специфичность расщепления. Разработанные катализаторы представляют интерес в качестве инструментов для исследований структуры РНК и комплексов РНК—белок.

Молодыми сотрудниками того же института для разрешения проблем детального анализа кариотипа мыши созданы районспецифичные микродиссекционные библиотеки для хромосом X, 3, 6, 18. На рис. 10 показан набор библиотек для многоцветного бэндинга хромосомы 3 мыши. Каждая библиотека помечена определенным флюорохромом или их уникальной комбинацией, что позволяет получить многоцветный бэндинг высокого разрешения. Таким же образом получен бэндинг для хромосом 6 и 18. Данный метод применен для исследования линии мыши WMP2, результаты представлены на рис. 11. Как видно из рисунка, в данной линии присутствует трисомия по хромосоме 6.

В том же институте проведено изучение механизмов трансформации имагинальных дисков, вызванной мутациями опухоле-супрессорных генов *fat*, *giant larva* и *merlin* у *D. melanogaster*. Исследована динамика изменения параметров клеточного цикла для опухоле-супрессорных мутаций *fat^A*, *lgl^{DI275}*, *mer^A* с помощью метода меченых митозов. Результаты эксперимента для *overgrowth* (доброкачественная опухоль) мутации *fat* приведены на рис. 12. На рисунке ордината — процент меченых метафаз, абсцисса — время инкубации (ч) в отсутствие предшественника ДНК. Непрерывная линия — контрольная линия HikkoneAW, пунктир — гомозиготы *fat*.

Второй максимум отражает наличие фракции клеток с удлинённым G2-периодом. Продукт ген *l(2)gl* — наиболее изученный опухоле-супрессор, имеющий одноименный гомолог у человека. Сравнение кривой меченых митозов для крыловых имагинальных дисков гомозигот по *l(2)gl* с кривой для клеток дикого типа показывает, что в этом случае образуется фракция как с укороченным G2-периодом (большая часть клеток), так и с удлинённым (меньшая часть клеток).

Эксперимент с мечеными митозами также проведен для гомозиготных клеток по мутации гена *merlin* — известного гомолога человеческого гена NF2, мутации в котором вызывают опухоли слухового нерва. В случае опухоле-супрессора *mer* искажение длительности фазы G2 также имеет место.

В Институте химической биологии и фундаментальной медицины получены данные о нуклеотидах рРНК, соседствующих с частью матрицы,

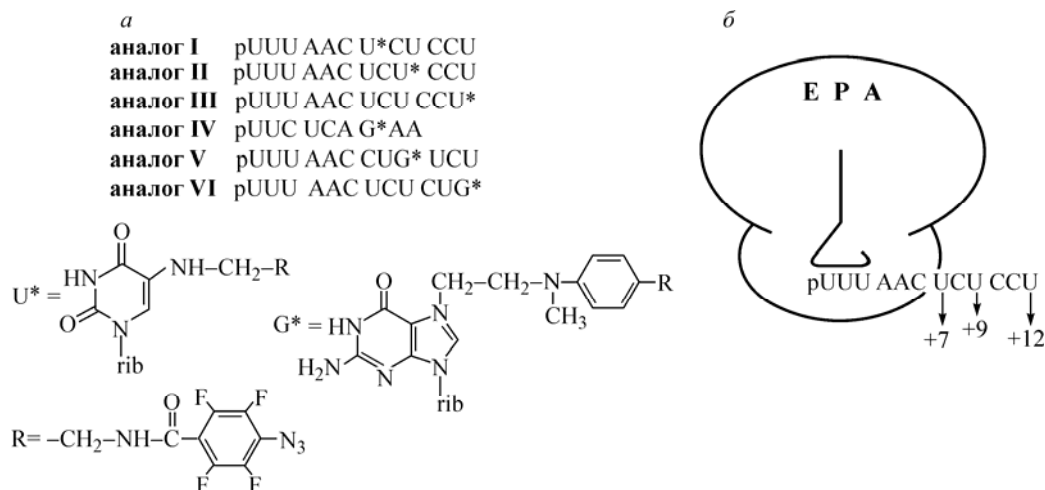


Рис. 13. Аналоги мРНК, использованные для аффинной модификации в составе модельных комплексов рибосом человека.

a — структурные формулы реакционноспособной группы и модифицированных остатков уридина и гуанозина; *b* — модельный комплекс 80S рибосомы с тРНК^{Phe} и одним из аналогов мРНК. Стрелками и цифрами указаны положения нуклеотидов, несущих сшивающую группу, на рибосоме.

Идентифицированы искусственные рибонуклеазы на основе 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана, содержащие липофильные фрагменты разной длины, способные расщеплять природные и искусственные РНК с разной вторичной структурой в условиях, близких к физиологическим, с эффективностью не менее 95 % за 24 ч.

Предложена бинарная система расщепления РНК, состоящая из олигонуклеотидов, частично комплементарных РНК и образующих в ней петлю, и искусственной рибонуклеазы. Впервые исследовано влияние структуры РНК на их расщепление синтетическими органическими соединениями. Обнаружено, что реакция с максимальной скоростью протекает по участкам структуры РНК, содержащим боковые петли размером 4—7 нуклеотидов, в которых имеются пиримидинпуриновые последовательности (рис. 14). Полученные данные представляют интерес для разработки технологий направленной фрагментации РНК.

Предложен оригинальный способ инактивации *in vitro* вируса гриппа с помощью искусственных рибонуклеаз — конъюгатов 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана и имидазола, разработанный в ИХБФМ.

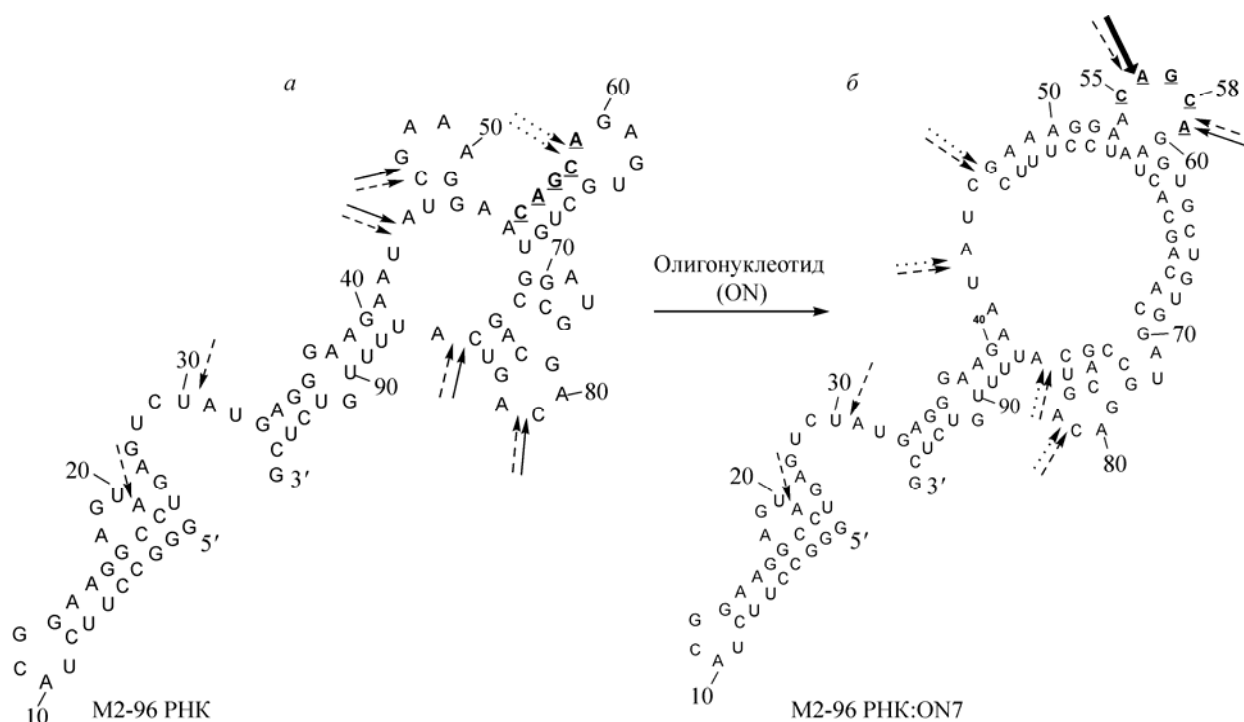


Рис. 14. Изменение чувствительности фосфодиэфирных связей M2-96 РНК (*a*) в комплексе с олигодезоксирибонуклеотидом ON7, образующем боковую петлю (*b*), к расщеплению под действием соединения искусственной рибонуклеазы ABL4C3. Стрелки указывают сайты расщепления M2-96 РНК соединением ABL4C3 в отсутствие (пунктирные) и присутствии (сплошные) 10 мМ Mg²⁺. Толщина стрелок соответствует интенсивности расщепления по данной фосфо диэфирной связи.

Обработка вируса гриппа A/WSN/33 искусственной рибонуклеазой не вызывает изменений структурных белков вириона, но сопровождается снижением уровня геномных РНК, приводит к снижению инфекционного титра и полностью подавляет способность вируса к репликации в культуре клеток и куриных эмбрионах. Полученные данные представляют интерес для разработки вакцин против вируса гриппа и других РНК-содержащих вирусов.

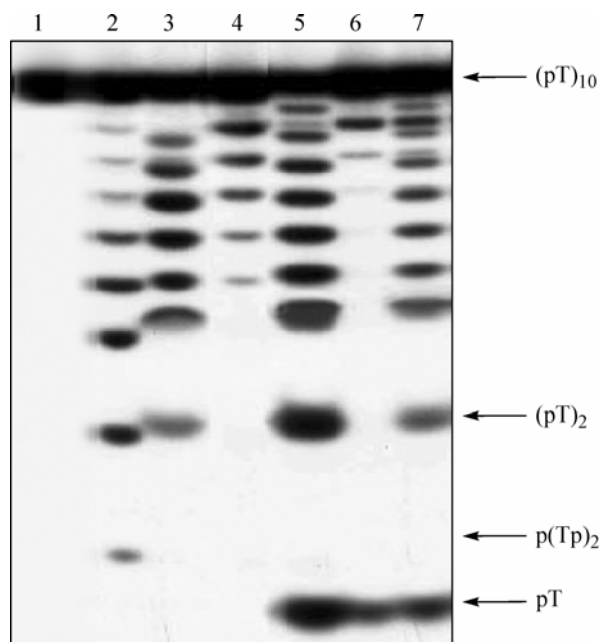


Рис. 15. Электрофоретический анализ гидролиза [³²P]d(pT)₁₀ с помощью IgG из крови больных РС и ДНКазами. ON (5 нмоль) гидролизован с помощью ДНКазы II (дор. 2), ДНКазы I (дор. 3) и препаратами IgG-абзимов от различных больных РС. Дор. 1 соответствует контрольной инкубации в отсутствие ферментов.

В том же институте проведено исследование ДНК-гидролизующих активностей антител крови человека при заболевании рассеянным склерозом и СПИД. Результаты сравнительного анализа ДНК-гидролизующей активности антител в случае СПИД показали, что при развитии заболевания растет число больных с IgM-абзимами, в то время как число больных с IgG-абзимами практически не меняется, при этом наблюдается снижение доли пациентов с высоким уровнем активности как IgG-, так и IgM-абзимов (рис. 15).

Проведено детальное исследование субстратной специфичности IgG-абзимов из крови больных рассеянным склерозом при гидролизе различных олигонуклеотидов.

Согласно полученным данным, препараты антител поликлональны и содержат от одного до нескольких типов нуклеазной активности, характеризующихся различной зависимостью от ионов двухвалентных металлов и специфичностью гидролиза. ДНК-гидролизующие антитела демонстрируют все возможные комбинации эндо- и экзонуклеазных активностей. Более того, продукты гидролиза могут содержать как 5'-, так и 3'-фосфаты, что говорит о реализации абзимами различных механизмов гидролиза ДНК.

Молодежным коллективом того же института исследованы конформационные переходы в ферментах репарации с помощью методики остановленной струи. Зарегистрированы изменения спектров флуоресценции и КД от времени в экспериментах по смешиванию Fpg из *E. coli* и hOgg1 с субстратами различной степени специфичности.

На рис. 16 представлены зависимости интенсивности флуоресценции hOgg1 от времени для разных концентраций AP- и 8-охоG-субстратов.

Это позволило получить количественные характеристики скоростей различных стадий процесса, таких как узнавание субстрата и элементарных каталитических стадий. Также проанализированы кинетические кривые для про- и эукариотических ферментов репарации и на основании анализа предложены кинетические схемы механизмов их действия. Сравнение кинетических механизмов с данными рентгеноструктурного анализа для фермент-субстратных комплексов позволило установить динамическую картину взаимодействия ферментов репарации с ДНК, содержащей поврежденные основания.

В работе впервые проведено детальное кинетическое исследование ферментативной реакции с участием 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы человека и *E. coli*. Полученные результаты дополняют данные о

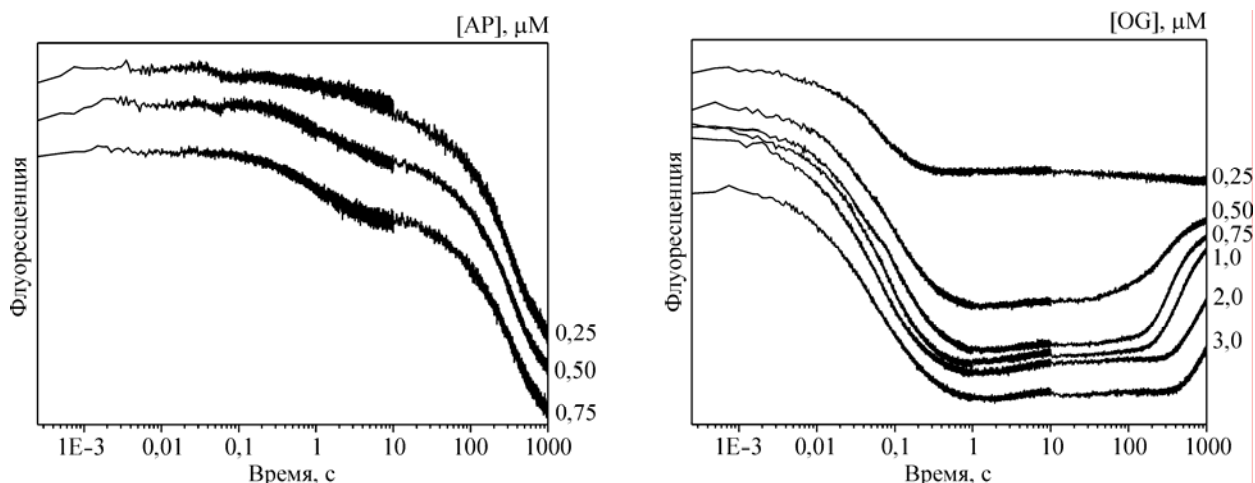


Рис. 16. Изменение флуоресценции hOgg1 при смешивании его с субстратами AP (слева) и 8-охоG (справа) при 25 °С. [hOgg1] = 1,5 мМ.

процессе узнавания ферментами специфических субстратов, полученных методом рентгеноструктурного анализа, и представляют интерес для понимания динамики конформационных переходов в составе сложных белково-нуклеиновых комплексов.

Сотрудниками ИХБФМ на основе конъюгатов антибиотика блеомицина с олигонуклеотидами (рис. 17) разработаны искусственные рибонуклеазы и нуклеазы двухцепочечной ДНК. Эффективное расщепление нуклеиновых кислот — мишеней — достигается за счет использования двух основных подходов: создания при помощи комплементарных взаимодействий в НК-мишени сайтов предпочтительного связывания остатка антибиотика и использования гибких протяженных линкеров на основе гексаэтиленгликольфосфата для доставки остатка антибиотика к сайту связывания. На рисунке изображен общий вид конъюгата.

Новые нуклеазы способны расщеплять РНК-мишени, устойчивые к действию немодифицированного блеомицина. Важной особенностью действия полученных конъюгатов на ДНК является их способность вызывать прямые двухцепочечные разрывы.

В Лаборатории биоорганической химии ферментов ИХБФМ проведено изучение специфических взаимодействий домена р32D репликативного белка А (RPA) с одноцепочечной ДНК и переходом одноцепочечная ДНК—двухцепочечная ДНК методами «задержки в геле» и фотоаффинной модификации. По результатам экспериментов с формами RPA, несущими точечные мутации в различных участках домена р32D, сделан вывод о том, что такие мутации снижают сродство гетеротримера к одноцепочечной ДНК, а также нарушаются характеристики связывания белка с ДНК как в варианте связывания RPA₃₀, так и в варианте RPA₈₋₁₀. Наиболее драматично на параметры связывания влияют аминокислотные замены D80A, T82A в структуре β-складки, образующей петлю в составе домена р32D. Эти замены могут влиять на переход ДНК-связывающего домена в «закрытое» состояние, обеспечивающее более плотный контакт со связываемой цепью ДНК. Полученные данные также свидетельствуют о том, что аминокислотные замены E101A, D104A и S159A, N161A в составе домена р32D приводят к неспособности этого домена корректно

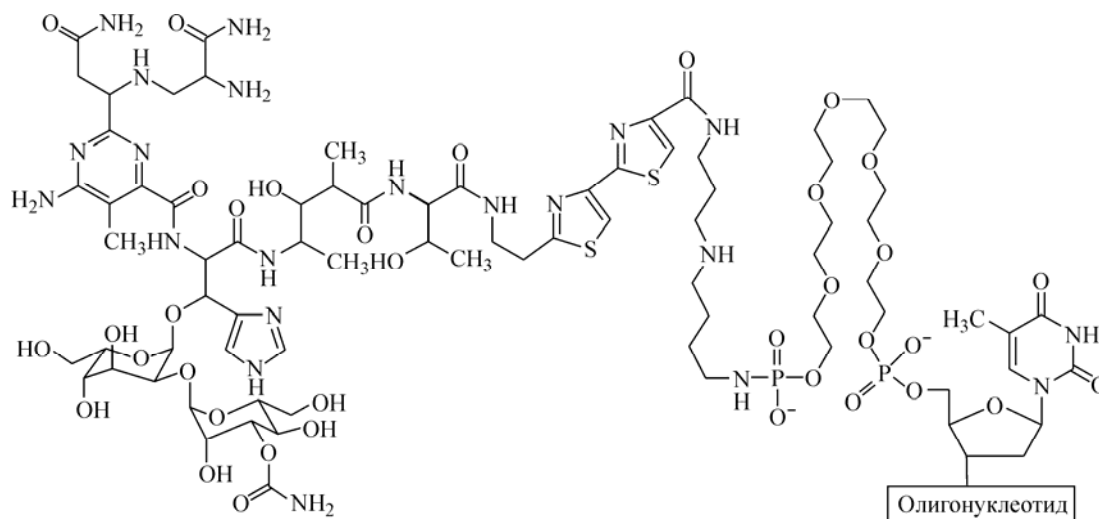


Рис. 17. Конъюгат антибиотика блеомицина с олигонуклеотидами.

5'-CCTGTTGCGCAGTTTCTCGA-MGB-3' конъюгат 1
 5'-MGB-CCTGTTGCGCAGTTTCTCGA-3' конъюгат 2
 5'-MGB-CCTGTTGCGCAGTTTCTCGA-MGB-3' конъюгат 3

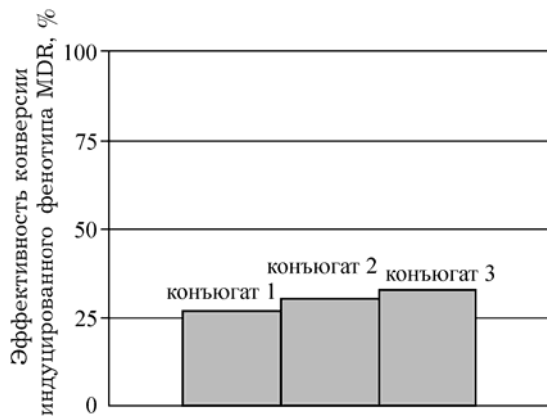


Рис. 18. Подавление развития фенотипа MDR в клетках KB-3-1 под действием мутагенных олигонуклеотидов.

препятствуют развитию фенотипа множественной лекарственной устойчивости в культуре клеток, активированных инкубацией в присутствии цитостатика: при активации цитостатиком обработанных клеток обнаружено, что у 30 % клеток произошло обращение фенотипа MDR и активации гена *mdr1* не происходило. Обращение фенотипа зафиксировано методом флуоресцентной микроскопии по снижению внутриклеточного содержания флуоресцентного красителя родамина-123 (рис. 18). Дальнейшее субклонирование и секвенирование клеток с измененным фенотипом не выявило точечной мутации в заданной области. По-видимому, обработка клеток конъюгатами олигонуклеотидов с малобороздочными лигандами затрагивает еще не исследованные клеточные механизмы и является предметом дальнейшего детального изучения.

Полученные данные позволяют разработать новые подходы направленной коррекции точечных мутаций в первичной культуре клеток пациентов с генетическими заболеваниями, обусловленными однобуквенными заменами.

Коллективом того же института охарактеризованы стэкинг-взаимодействия всех совершенных и несовершенных пар оснований в точке одноцепочечного разрыва в ДНК и определены термодинамические вклады различных факторов структуры тандемных комплексов, оказывающих влияние на эффективность коаксиального взаимодействия на стыке дуплексных структур. Изучено ферментативное лигирование одноцепочечного разрыва в ДНК в составе как совершенных тандемных комплексов, так и комплексов, содержащих любую несовершенную пару оснований на стыке дуплексных структур (рис. 19).

Показано, что селективность взаимодействия олигонуклеотидов с ДНК матрицей в составе тандемных комплексов и избирательность их ферментативного превращения по-разному зависят от природы несовершенной пары. Сделан вывод, что надежное выявление однонуклеотидных несоответствий в ДНК при проведении ферментативного лигирования может быть достигнуто только в том случае, если выбор олигонуклеотидных компонентов системы основан на одновременном учете как термодинамических, так и ферментативных характеристик. Надежность полученных выводов подтверждена на основании анализа эффективности целого ряда гетерофазных тест-систем для выявления точечных мутаций, основанных на лигировании тандемов коротких олигонуклеотидов.

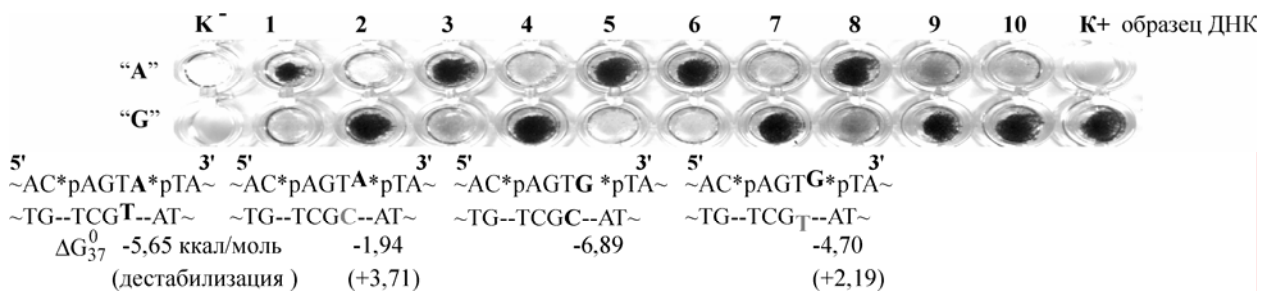


Рис. 19. Сканированное изображение планшета с полимерами через 35 мин проявления продукта лигирования при 37 °C тандемов в правильных и несовершенных комплексах с ДНК-матрицами. K⁻, K⁺ — в отсутствие матрицы ДНК и в присутствии синтетической матрицы «G»-типа соответственно. Внизу даны возможные варианты комплексов вблизи полиморфного сайта и величины свободной энергии комплексообразования центрального тетра-нуклеотидного компонента тандемов.

взаимодействовать с переходом оцДНК—дцДНК, нарушая первоначальное «позиционирующее» взаимодействие ДНК-связывающих доменов А, В, С с физиологически значимыми структурами ДНК. Особый интерес представляют мутации аминокислотных остатков S159, N161. Результаты работ, проведенных с использованием таких мутантных форм, говорят об особой роли межсубъединичных взаимодействий в составе гетеротримера RPA.

Для создания нового метода подавления экспрессии генов путем внесения точечных мутаций в ИХБФМ разработаны и синтезированы производные олигонуклеотидов, гомологичных последовательности промотора гена *mdr1*, несущие на 5'- и/или 3'-концах малобороздочные лиганды (MGB), способные сиквенс-специфически взаимодействовать с ДНК. Культура клеток KB-3-1 обрабатывалась конъюгатами олигонуклеотидов. Показано, что такие конъюгаты, содержащие однобуквенную замену по отношению к ДНК-мишени,

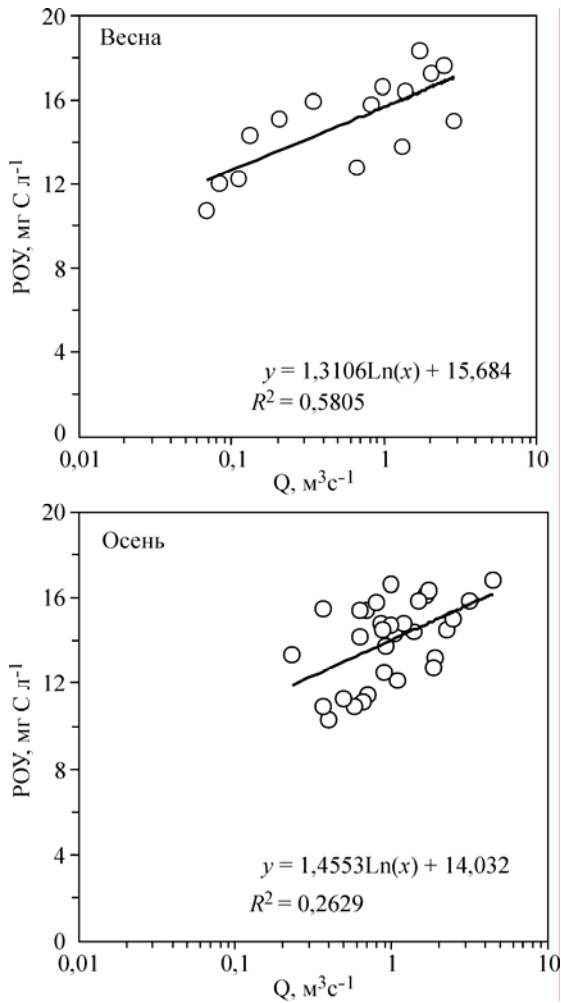


Рис. 20. Зависимость концентрации растворенного органического углерода от расхода воды в ручье в зависимости от сезона.

Методом термической денатурации в растворе и с помощью дополнительных ферментативных превращений на поверхности твердой фазы исследована селективность взаимодействия с ДНК мостиковых олигонуклеотидов. Показано, что при гибридизации с ДНК как в гомофазном, так и гетерофазном варианте мостиковые олигонуклеотиды более чувствительны к нуклеотидным заменам в матрице ДНК.

Разработки, полученные при выполнении проекта, использованы при создании ряда диагностических тест-систем, в том числе для выявления и генотипирования вируса гепатита С.

В Институте леса им. В. Н. Сукачева проведено исследование водной миграции органического углерода в почвах лиственничников, сформированных на многолетнемерзлых грунтах Центральной Эвенкии с учетом пространственной (склоны разных экспозиций) и временной (внутрисезонной) изменчивости. Установлено, что в системе почва—водоток концентрации растворенного органического вещества и неорганических соединений имеют обратные зависимости. Снижение концентрации растворенного органического вещества за счет адсорбции и биodeградации почвенной микрофлорой сопровождается выщелачиванием неорганической компоненты почв и ростом концентраций неорганических ионов в процессе их миграции. Также выявлено, что оттаивание деятельного горизонта и увеличение его глубины в течение безморозного периода являются ключевым фактором, модулирующим процессы образования, миграции и экспорта вещества из наземных экосистем в поверхностные воды. В связи с этим снижение потока растворенного органического углерода и, наоборот, рост потока неорганического вещества из почв по мере увеличения деятельного горизонта усиливаются в течение вегетационного сезона (рис. 20).

Теплообеспеченность склонов определяет как количественные, так и качественные характеристики потока растворенного органического вещества в условиях мерзлотных почв. Увеличение количества образуемого растворенного органического вещества сопряжено с присутствием соединений более поздних стадий разложения (гуминовые вещества) и больших концентраций продуктов биodeградации лигнина. Помимо этого косвенным свидетельством отмеченного является отсутствие неорганических форм азота в лизиметрических водах подстилок северного склона.

Идентичность списков и количественных соотношений продуктов пиролиза образцов поверхностных вод и вод терригенного происхождения свидетельствует об образовании растворенного органического вещества в условиях наземных экосистем с их последующей миграцией, сопровождающейся той или иной степенью биodeградации.

В том же институте проведен сравнительный анализ клеточных и денситометрических характеристик годовичных колец у подвоя и привоя в прививках кедра сибирского (*P. sibirica*) и сосны обыкновенной (*P. sylvestris*) в лесостепи Средней Сибири. Выявлены анатомические различия у подвоя и привоя в формировании толщины клеточной стенки. Отмечено четкое разделение годовичного кольца на раннюю и позднюю зоны по

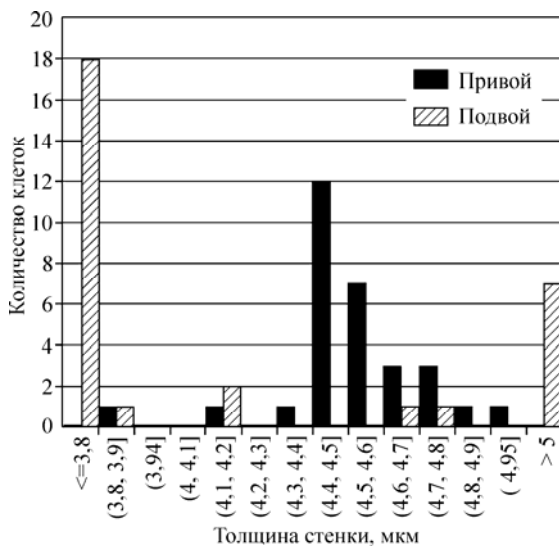


Рис. 21. Распределение значений толщины клеточной стенки для привоя и подвоя.

лесостепи Средней Сибири. Выявлены анатомические различия у подвоя и привоя в формировании толщины клеточной стенки. Отмечено четкое разделение годовичного кольца на раннюю и позднюю зоны по

толщине клеточной стенки у подвоя, и, наоборот, привой формирует клеточные стенки примерно одинаковой толщины на протяжении всего сезона роста (рис. 21).

Формирование широкой зоны ранней древесины, большого количества клеток крупного размера, более позднее замедление роста и более поздний переход к формированию клеток поздней древесины способствуют формированию более широких годовичных колец у привоя по сравнению с подвоем, что, соответственно, может приводить к разрыву проводящих тканей в месте срастания прививки и являться одной из причин межвидовой несовместимости при прививке.

Отмечено формирование аномальных клеток у привоя (кедра) и деревьев кедра, выращенных из семян, в ответ на весенние заморозки в отличие от подвоя (сосны) и деревьев сосны, выращенных из семян, что свидетельствует о сохранении генетически детерминированных признаков при прививке кедра на сосну.

Молодыми сотрудниками того же института создана методика измерения массы и плотности клеточных стенок трахеит хвойных. Методика реализована в виде программы «SpektrMP.exe», позволяющей по денситометрическим и структурным данным годовичных колец проводить полный комплекс расчетных процедур, результатом которых являются не только масса и плотность клеточных стенок, но и целый набор других клеточных параметров. Это радиальный размер клетки, толщина клеточной стенки, площадь поперечного сечения клетки и клеточной стенки, отношение этих площадей, средняя плотность клетки. Проведена верификация методики и программного обеспечения.

С помощью созданных методики и программного обеспечения впервые получены хронологии изменения массы и плотности клеточных стенок трахеид для двух пород хвойных (*Larix sibirica* Ldb. и *Pinus sylvestris* L.), произрастающих на одном тест-полигоне (BUG) Средней Сибири в районе Подкаменной Тунгуски. Длительность хронологий составила порядка 100 лет. В процессе работы проведены клеточные и денситометрические измерения для 877 годовичных колец (45 335 клеток). На рис. 22 показаны графики выражения и экспериментальные значения для годовичных колец лиственницы и сосны. Видно хорошее согласие между ними.

В Институте мониторинга климатических и экологических систем получены новые данные по двум актуальным направлениям современной науки: первое связано с динамикой верхней границы

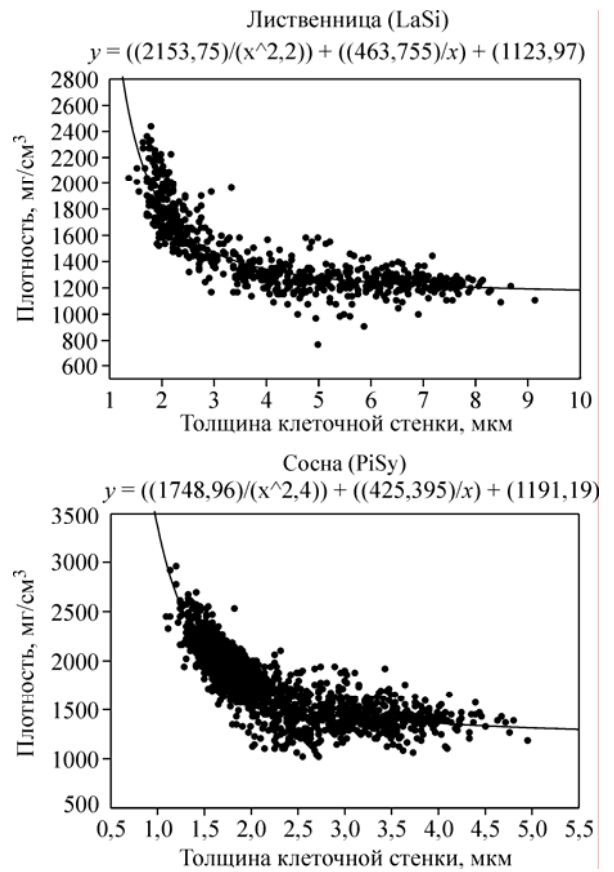


Рис. 22. График модели связи вида радиографической плотности клеточной стенки с ее толщиной для годовичных колец лиственницы и сосны.



Рис. 23. Изменение средней температуры верхнего слоя почвы (10 см) на верхней границе зоны леса (1890 м над ур. м.).

произрастания хвойных и ее связи с климатическими изменениями, второе — с выявлением фундаментальных причин границы и функционального механизма, лежащего в основе ограничения роста и развития древесных.

В результате выполнения индивидуального молодежного проекта определена эколого-физиологическая дифференциация верхней границы произрастания хвойных в четырех различных районах Алтае-Саянского экорегиона; исследовано развитие во времени и пространстве разнообразных экологических форм роста хвойных на верхнем пределе распространения, а также факторов, оказывающих влияние на их развитие. На основе морфофизиологических, дендрэкологических и микроклиматических методов проведена верификация основных существующих гипотез климатического предела распространения. Проверка трех основных гипотез — «иссушение», «фотосинтез» и «репродукция» — показала, что они не являются универсальными. Объяснение выживаемости недревесных форм роста в экстремальных условиях высокогорий следует искать в микроклимате над- и внутрикустарниковой растительности. Существует определенный термальный порог распространения древесных, и, как показывают микроклиматические различия между деревьями и кустарниками, наиболее важной является температура верхнего слоя почвы. На рис. 23 показан годовой ход температуры верхнего слоя почвы (10 см) на верхней границе зоны леса.

Предложена гипотеза о том, что средняя температура верхнего слоя почвы (в прикорневой части) в течение вегетационного периода является критическим фактором, определяющим текущее положение верхней границы зоны леса, и она имеет приблизительно одинаковое значение вне зависимости от широты, долготы, высоты над уровнем моря, видов, формирующих верхнюю границу, эдафических и орографических условий. Проведены начальные работы по верификации данного предположения.

В Сибирском институте физиологии и биохимии растений получены данные о функционировании в изолированных митохондриях злаков семи различных систем, регулирующих степень сопряжения процессов окисления и фосфорилирования.

С помощью полярографического анализа показано, что при низкотемпературном стрессе в митохондриях холодоустойчивых злаков происходит активация альтернативной цианидрезистентной оксидазы, стрессового разобщающего белка БХШ 310 и ротенон и антимицин-нечувствительной НАДН дегидрогеназы, что указывает на важную роль этих белков в защите растений от переохлаждения. Изучено участие БХШ 310 в переносе электронов по дыхательной цепи митохондрий и получены данные, которые позволяют рассматривать функционирование БХШ 310 как специфическую систему разобщения, характерную для злаков (рис. 24). Защита растений от низкотемпературного стресса с участием изученных митохондриальных разобщающих систем заключается в повышении температуры тканей организма в первые моменты охлаждения и защите от окислительного стресса.

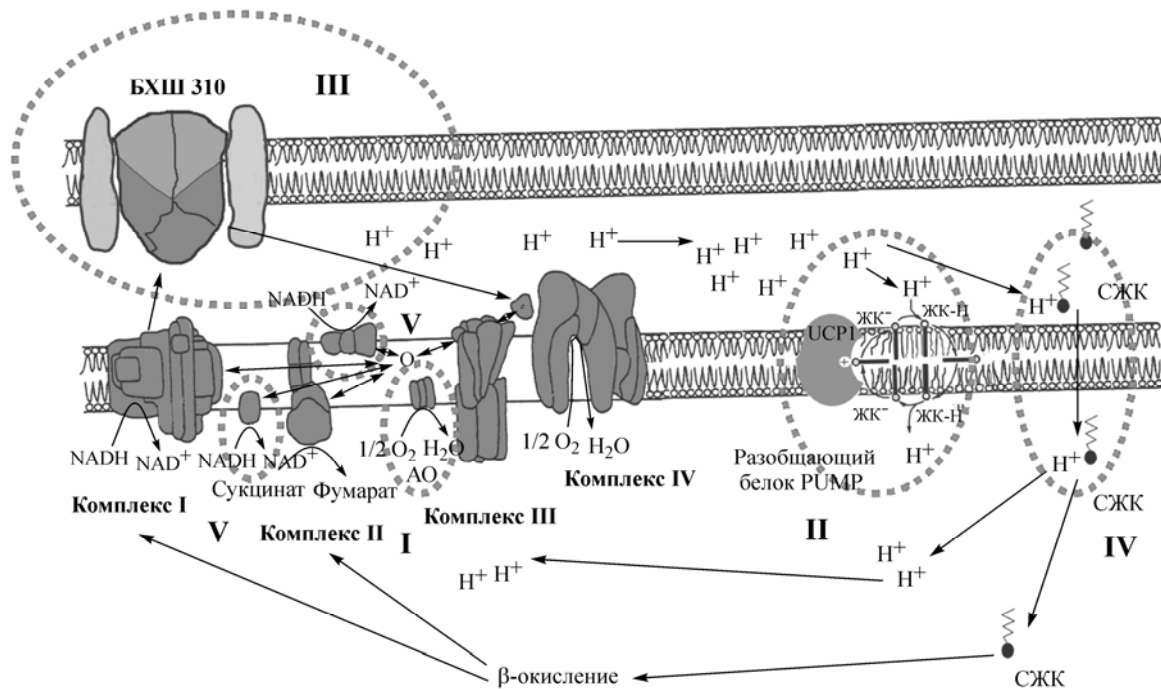


Рис. 24. Митохондриальные системы растений, регулирующие степень сопряжения процессов окисления и фосфорилирования.

I — альтернативная цианидрезистентная оксидаза; II — разобщающий белок PUMP; III — разобщающий белок БХШ 310; IV — непосредственное разобщение окислительного фосфорилирования свободными жирными кислотами; V — «внешняя» и «внутренняя» ротенон-резистентные НАДН-дегидрогеназы.

В Центральном сибирском ботаническом саду изучена половая структура ценопопуляций Курильского чая (*Pentaphylloides fruticosa*) в пределах Горного Алтая и Тувы. Показано, что в поясно-высотном градиенте наблюдается закономерная смена соотношения половых форм в ценопопуляциях *P. fruticosa*: доминирование обоеполых особей в низкогорных сообществах и преобладание женских особей в условиях высокогорий. По направлению от Западного к Юго-Восточному Алтаю и далее к Туве также отмечается закономерное изменение половой структуры ценопопуляций *P. fruticosa*: увеличение доли женских растений в гетероморфных ценопопуляциях (табл. 1).

Таблица 1. Распределение разных типов ценопопуляций *Pentaphylloides fruticosa* в пределах Горного Алтая и Тувы, %

Тип ценопопуляции		Горный Алтай			Тува	
		Западный Алтай	Центральный Алтай	Юго-Восточный Алтай		
Мономорфные		89,4	45,5	19,2	23,8	
Дицичные	С равным соотношением женских и мужских особей	0	18,2	11,5	7,1	
	С преобладанием женских особей над мужскими	5,3	13,6	23,1	33,3	
Трицичные	С преобладанием гермафродитных растений над раздельнополыми	0	0	23,1	9,5	
	С преобладанием раздельнополых особей над гермафродитными	Преобладание женских особей	5,3	9,1	15,4	21,4
		Равное соотношение женских и мужских особей	0	13,6	7,7	2,4
	С равным соотношением гермафродитных и раздельнополых особей	0	0	0	2,4	

В том же институте пересмотрены и систематизированы имеющиеся данные по мхам Кузнецкого Алатау. В летний период проведено дополнительное бриологическое обследование территории с целью выявления редких видов и уточнения закономерностей распределения мхов в растительном покрове.

В результате выявлены состав и распределение видов мхов в растительном покрове центральной высокогорной части Кузнецкого Алатау. Всего выявлено 259 видов листостебельных мхов, из них 165 — приводятся для данной территории впервые; 1 — *Pohlia obtusifolia* (Brid.) L. Koch. впервые обнаружен на территории Сибири; 1 — *Pseudoephemerum nitidum* (Hedw.) Loeske впервые собран в горах Алтае-Саянской области; ряд видов являются редкими для Алтае-Саянской области в целом.

Составлен конспект бриофлоры с указанием для каждого вида встречаемости, ценогической приуроченности и типичных местообитаний. Все бриологические данные в унифицированном виде

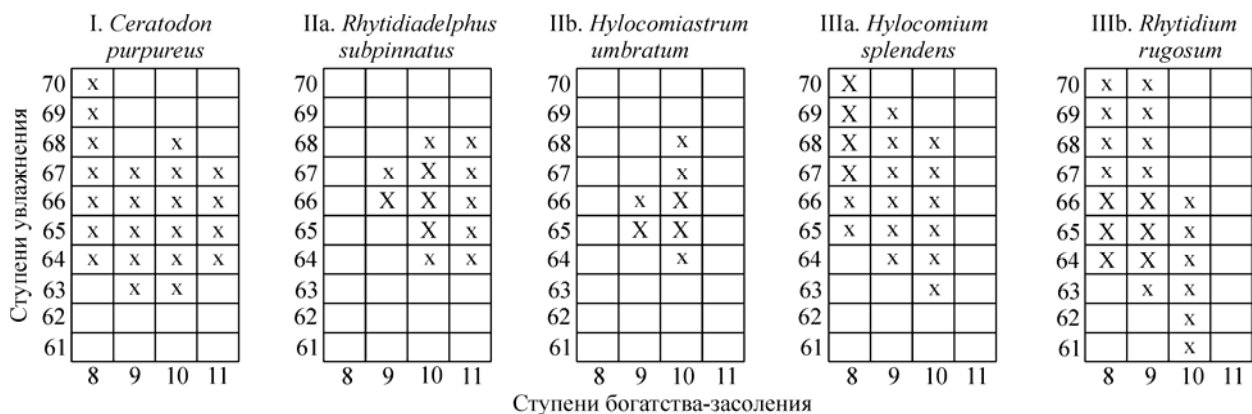


Рис. 25. Схема экологических амплитуд видов мхов в координатных осях богатства-засоления и увлажнения по шкалам Раменского.

x — показатели, при которых вид встречается, X — показатели, при которых вид наиболее постоянен/обилен.

хранятся в базе данных под оболочкой Интегрированной Ботанической Информационной Системы.

Описательные данные по распределению и экологии видов мхов на изучаемой территории формализованы и представлены в виде схем:

по методике эколого-флористической классификации составлена синоптическая таблица, показывающая распределение видов мхов по основным типам растительных сообществ изучаемой территории;

на основе топографической карты изучаемой территории масштаба 1 : 200 000 и материалов базы данных в IBIS в среде ArcView для всех видов созданы точечные слои распределения на территории, что позволяет анализировать ландшафтное распределение видов;

выполнена ординация видов мхов по экологическим шкалам Раменского (для этого предложен способ опосредованной ординации — через ординацию растительных сообществ, в которых обитают мхи) (рис. 25);

для всех выявленных видов мхов построены схемы амплитуд занимаемых микроместообитаний (предложен графический способ построения амплитуд местообитаний — весь набор представляется в виде матрицы, где по горизонтали отложены типы ландшафтных выделов, а по вертикали — типы субстратов. Матрицы для каждого вида заполняются с учетом показателей встречаемости и обилия вида в различных станциях.

Показано, что на изучаемой территории большинство видов мхов осваивают широкий спектр микроместообитаний. Наибольшее видовое разнообразие связано с каменистыми субстратами. Здесь отмечено 155 видов, большинство (121 вид) обитает в лесном поясе, из них 42 — не выходят за пределы лесного пояса. Эпилитов, ограниченных поясом тундр и поясом крупнотравий, мало — в сумме 5. Как облигатные эпилиты ведут себя лишь 37 видов, при этом 27 видов отмечены только на известняковых скальных выходах лесного пояса. Многие из видов, характерных для лесных сообществ и растущих здесь преимущественно на валеже и подстилке, при подъеме вверх по высотному профилю переходят на каменистые субстраты и остаются массовыми в относительно защищенных местообитаниях на курумах и скальных выходах. Эпифитная флора очень бедна (9 видов). Среди основных типов растительных сообществ наибольшим видовым разнообразием (без учета эпилитных видов) характеризуются леса (93 вида), за ними следуют тундры (45 видов) и субальпийские крупнотравья (28 видов).

По высотным поясам наибольшее разнообразие вновь приурочено к лесному поясу, при этом 41 вид встречается во всех трех поясах, 13 видов — общие для лесного и тундрового поясов, 25 видов — общие для лесного пояса и пояса крупнотравий, 43 вида связаны исключительно с болотами, 21 — с водными и околоводными местообитаниями. Виды «сквозного» распространения демонстрируют различные показатели встречаемости в различных типах сообществ/местообитаний, и эти показатели необходимо учитывать как при описании экологии видов, так и при составлении бриохарактеристик растительных сообществ.

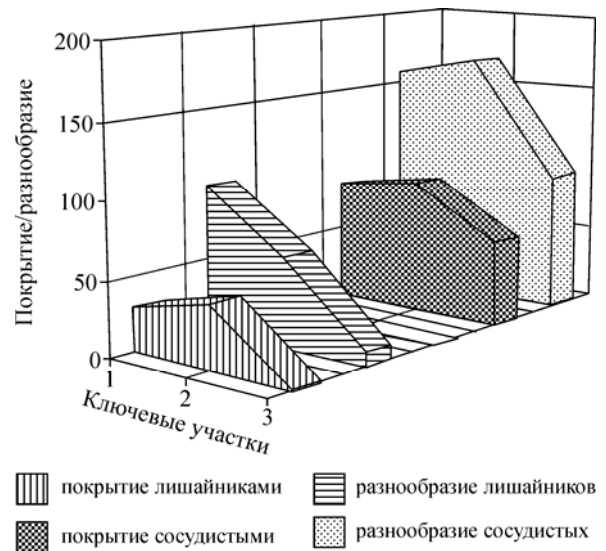


Рис. 26. Изменение среднего проективного покрытия и видового разнообразия лишайников и сосудистых растений на трех ключевых участках.

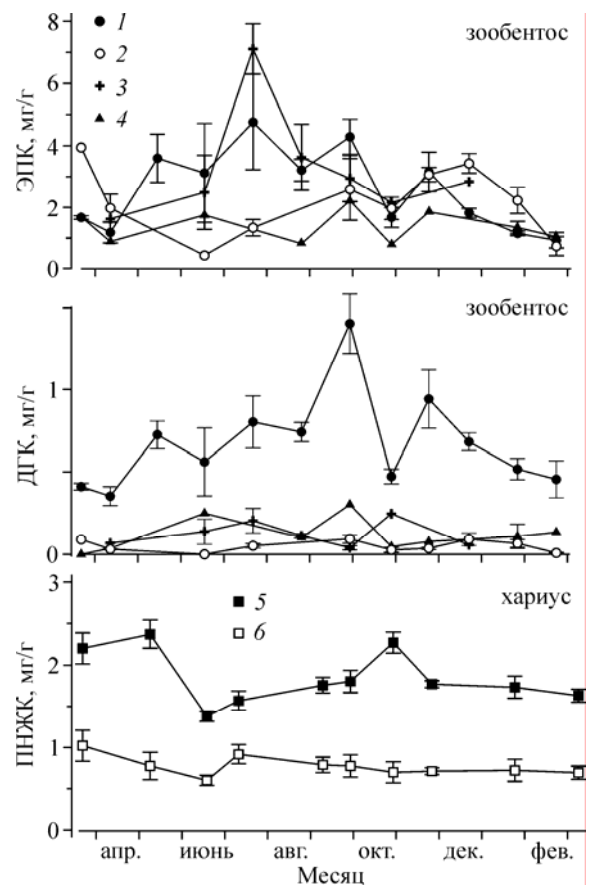


Рис. 27. Сезонная динамика содержания ЭПК и ДПК в биомассе зообентоса (мг/г сырого веса):

1 — гаммариды, 2 — личинки ручейников, 3 — личинки хирономид, 4 — олигохеты; содержание ПНЖК в биомассе хариуса: 5 — ДПК, 6 — ЭПК.

В том же институте при сравнительном изучении изменения видового разнообразия и обилия сосудистых растений и лишайников выявлено, что чувствительность разнообразия и проективного покрытия лишайников к химическому загрязнению на исследованных территориях в несколько раз выше, чем этот показатель у сосудистых растений (рис. 26). Особенно чутким показателем является изменение проективного покрытия лишайников в однотипных сообществах.

В Институте биофизики проведено исследование продукции и передачи незаменимых полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) в трофической цепи экосистемы среднего Енисея. Впервые установлено, что весной и летом основная часть запасов ПНЖК речной литоральной экосистемы сосредоточена в биомассе первичных продуцентов — фитоперифитонных микроводорослей, а к осенне-зимнему периоду перемещается в биомассу консументов — бентосных беспозвоночных. Одновременно с перемещением запасов между этими трофическими уровнями происходило почти трехкратное концентрирование ПНЖК в биомассе консументов. Такое концентрирование означало, что перенос ПНЖК между звеньями первичных продуцентов и консументов был гораздо эффективнее, чем для общего органического вещества. При этом в течение года содержание ПНЖК в биомассе всех изученных групп зообентоса значительно и достоверно варьировало, что обусловлено изменениями в составе пищи и биохимическими особенностями жизненного цикла животных (рис. 27). Очевидно, что такие сезонные колебания содержания следует учитывать при оценке общих запасов ПНЖК в речных экосистемах. В то же время содержание ПНЖК в биомассе всеядного вида рыб сохранялось практически постоянным в течение года исследований. Среднее суммарное содержание двух основных незаменимых ПНЖК, эйкозопентаеновой (ЭПК) и докозагексаеновой (ДГК) кислот, в тканях зообентоса и рыб было практически одинаковым в течение года. Таким образом, эффективность передачи ПНЖК между верхними трофическими уровнями (зообентос—рыбы) оказалась близка к таковой для общего органического вещества.

Применение метода корреляционных графов для процентного содержания всех жирных кислот показало, что обе незаменимые ПНЖК у микроводорослей тесно коррелировали с содержанием других ПНЖК, тогда как у зообентоса имели отдельное положение, т. е. характеризовались особой динамикой. У рыб наблюдалось отдельное положение ДГК и самое большое число корреляционных связей между жирными кислотами, что свидетельствовало о более жесткой метаболической регуляции жирно-кислотного состава. Таким образом, у фитобентоса основным фактором, определяющим содержание незаменимых ПНЖК, являлись общие процессы биосинтеза *de novo*, у зообентоса и рыб — пищевые источники и видоспецифичная метаболическая регуляция. У последних, скорее всего, метаболический контроль превалировал над влиянием пищевых источников.

В том же институте разработана информационная система по трансгенным светящимся микроорганизмам с использованием клиент-серверной технологии, позволяющая хранить и отображать информацию об общих характеристиках клонированных lux-систем, их источниках, свойствах, регуляции

The screenshot shows a software window titled "7. Штаммы" (Strains) with a complex form for data entry. The form is organized into several sections:

- Штамм (Strain):** Contains a text field with "Escherichia coli Z905/pPHL7" and a "Реакция на факторы среды" (Reaction to environmental factors) button.
- Публикации (Publications):** A list box showing references: "Брильков - 1995", "Бояндин - 2000", "Дрокина - 1998", and "Илларионов - 1985".
- Хромосомные мутации (Chromosomal mutations):** A list box with "hsdM+", "hsdR+", "met-", and "recA".
- Вид (Species):** A dropdown menu set to "Escherichia coli".
- Отношение к температуре (Temperature relationship):** A dropdown menu set to "Мезофил" (Mesophile).
- Отношение к кислороду (Oxygen relationship):** A dropdown menu set to "Факультативный анаэроб" (Facultative anaerobe).
- Отношение к источникам питания (Nutrition relationship):** A dropdown menu set to "Хемотроф" (Chemotroph).
- Патогенность (Pathogenicity):** A dropdown menu set to "Условно-патогенный" (Conditionally pathogenic).
- Размер хромосомы (Chromosome size):** A text field with "4600 т.п.н." (4600 bp).
- Образован. эндоспор (Endospore formation):** A dropdown menu set to "N".
- Генно-инженерные конструкции (Genetic engineering constructs):** A text field with "pPHL7".
- Питательные среды (Growth media):** A list box with "LBA", "M9", "M9Gc", and "M9P".
- Обозначения в коллекциях (Collection designations):** A table with two columns: "Коллекция" (Collection) and "Обозначение" (Designation). The entry shows "IBSO" and "Z905-1".
- Морфология (Morphology):** A text field with "Палочки 0,5-0,7x1,5-3 мкм" (Rod-shaped 0.5-0.7x1.5-3 μm).

At the bottom of the window, there are several tabs: "Морфология", "Конкурентоспособность", "Область применения", "Стабильность штамма", and "Контроль экспрессии lux".

Рис. 28. Пример формы для ввода данных клиентского модуля СУБД.

экспрессии в бактериальных клетках, изменениях экспрессии в различных условиях, а также о соответствующих векторах и рекомбинантных конструкциях. Включены такие характеристики трансгенных светящихся микроорганизмов, как конструкция клонированной системы, используемый для клонирования вектор, тип промотора, вариабельность экспрессии lux-генов и тип метаболизма клетки-хозяина.

Информационная система включает раздел по использованным при подготовке базы данных литературным публикациям, так и по Web-ссылкам на соответствующие ресурсы глобальной сети. Соответствующая база данных функционирует под управлением SQL-сервера; ввод и правка информации осуществляется с использованием специально разработанного программного обеспечения. Разработан сайт информационной системы в сети Интернет <http://lux.ibp.ru> (Internet Information Server 5.0, платформа Windows 2000 Server) (рис. 28). Извлечение информации из базы данных и отображение ее на страницах сайта осуществляется с помощью ASP-скриптов через ODBC-драйвер SQL-сервера. Реализованы возможности поиска информации, в частности, по систематическому положению штаммов — носителей lux-генов и по алфавитным спискам. Разработаны специальные поисковые формы, позволяющие извлекать информацию из БД по характеристикам, определяемым пользователем. В рамках интернет-сайта информационная система по трансгенным светящимся микроорганизмам интегрирована с электронной коллекцией природных светящихся микроорганизмов, описывающей хранящиеся в имеющей мировое значение коллекции ИБСО Института биофизики — штаммы светящихся бактерий.

Коллективом молодых сотрудников того же института в результате экспериментальных исследований оценены удельные активности и коэффициенты накопления америция-241 различными размерными фракциями сестона р. Енисей и отдельными видами диатомовых микроводорослей (табл. 2).

Таблица 2. Удельные активности и коэффициенты накопления америция-241 различными фракциями сестона р. Енисей.

Вид водорослей	Физиологическое состояние	Сухая биомасса, мг/л	Америций-241, накопленный водорослями, Бк/л (%)	Америций -241 в биомассе, кБк/г (КН, л/кг)
<i>Synedra</i> sp.*	Живые на свету	3,1 ± 0,1	284 ± 33 (28)	75 152 × 10 ³
	Мертвые		296 ± 31 (32)	85 200 × 10 ³
<i>Asterionella formosa</i>	Живые на свету	6,5 – 17,8	271 ± 78 (32)	18 ± 5 (30 ± 11) × 10 ³
	Живые в темноте	7,0 ± 0,8	197 ± 90 (21)	28 ± 15 (42 ± 23) × 10 ³
	Мертвые	6,8 ± 0,2	322 ± 106 (31)	48 ± 16 (71 ± 22) × 10 ³
<i>Diatoma vulgare</i>	Живые на свету	97,5 ± 8,3	694 ± 43 (79)	6,9 ± 0,9 (36 ± 12) × 10 ³
	Живые в темноте	100,3 ± 7,3	558 ± 58 (62)	5,2 ± 0,4 (16 ± 2) × 10 ³

Показано, что накопление америция-241 сестоном р. Енисей происходит в основном за счет частиц крупнее 0,45 мкм, к которым относятся клетки фитопланктона. Установлено, что интенсивность накопления америция-241 диатомовыми водорослями не превышает таковую для сестона р. Енисей, что позволяет предположить, что в состав сестона реки могут входить частицы, имеющие большее сродство с америцием, чем клетки диатомей. В экспериментах не выявлено различий в интенсивности накопления америция живыми и мертвыми водорослями, что позволяет сделать вывод об отсутствии энергозависимого накопления америция диатомовыми водорослями, входящими в состав сестона р. Енисей.

В Институте систематики и экологии животных изучены особенности жуков-трубковертов семейств Rhynchitidae и Attelabidae, являющихся важными компонентами экосистем. На основе морфологических признаков реконструированы филогенетические связи надвидовых таксонов трубковертов. Предложена принципиально новая филогенетическая система семейств ринхитид и аттелабид (рис. 29).

Установлено, что семейство ринхитид состоит из двух крупных групп. Наиболее эволюционно продвинутой является надтриба Rhynchitidae, представители которой приспособились сворачивать трубки из листьев. К семейству ринхитид относится 14 триб. Attelabidae — довольно молодое семейство, произошедшее от белидообразных форм в палеогене в результате изменения образа жизни, а именно

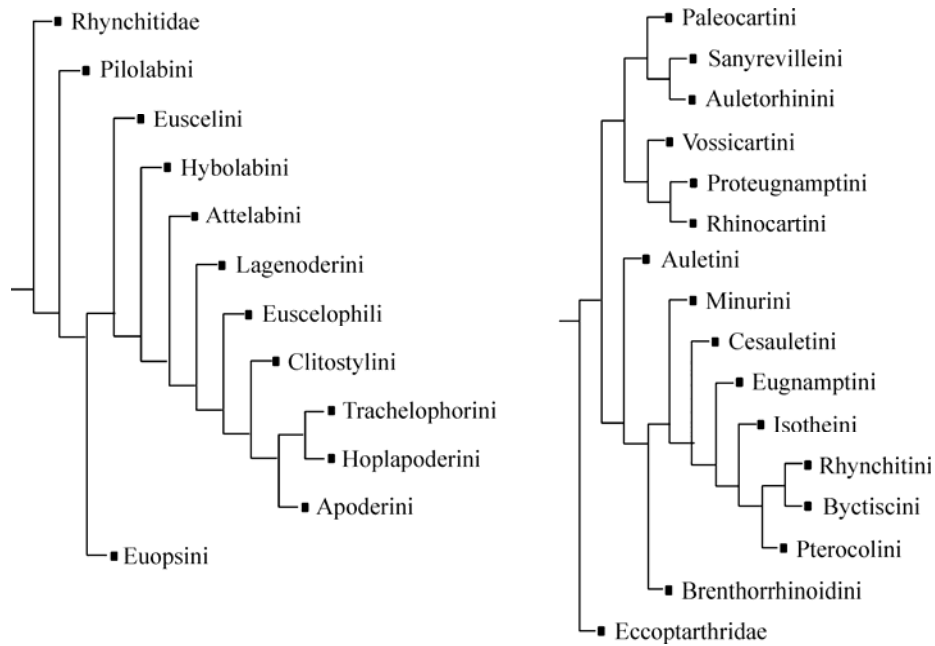


Рис. 29. Филогенетическая система семейств ринхитид и аттелабид.

перехода к сворачиванию листьев. Оно подразделяется на два хорошо обособленных подсемейства — Attelabinae и Apoderinae, последнее из которых характеризуется наибольшим количеством апоморфий. В филогении трубкавертов наиболее важным является поочередное ответвление триб от главного ствола, что показывает их обособленность друг от друга и последовательное приобретение апоморфий.

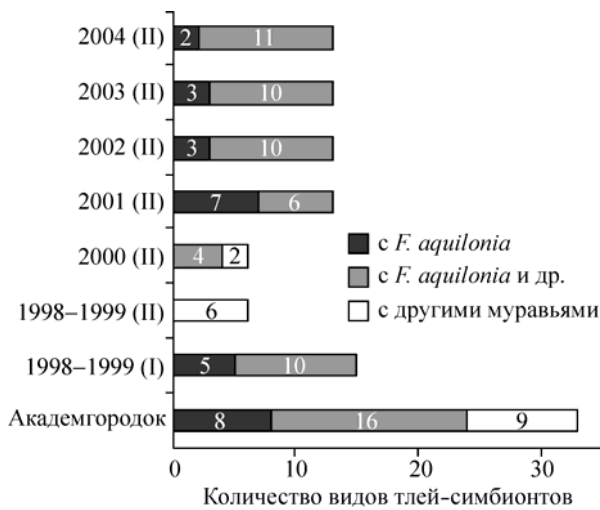


Рис. 30. Формирование трофобиотических связей муравьев и тлей в многовидовом сообществе под влиянием рыжих лесных муравьев *Formica aquilonia* Уагг. Территории мирмекокомплекса: I — старая, II — новая. Академгородок — смешанные рекреационные леса.

обводненности территории и величина доступных кормовых ресурсов, непосредственно определяющих качество среды обитания животных и их территориальную организацию. Другим важным фактором является доступность репродуктивного ресурса, т. е. число и пространственное размещение самок. Установлено, что ухудшение условий существования сопровождалось сокращением мест, пригодных для обитания, что приводило к увеличению перекрытия индивидуальных участков самок и усилению конкурентных взаимоотношений между ними. Следствием ухудшения качества среды обитания являлось снижение веса тела особей на фоне роста уровня стрессированности. Восстановление ресурсной базы в случае сохранения относительно низкой численности самок также сопровождалось высокими уровнями агрессивности и стрессированности самок (рис. 31). Таким образом, в популяции происходит постоянная смена вектора отбора особей, способных эффективно конкурировать за наиболее дефицитный ресурс, что должно способствовать устойчивому существованию популяции в меняющихся условиях существования.

В том же институте в ходе исследования симбиотических взаимодействий муравьев и тлей в единых многовидовых комплексах на территории смешанных лесов новосибирского Академгородка установлено, что самые богатые мирмекофильные ансамбли тлей (по 24 вида) связаны с рыжими лесными муравьями, доминирующими в многовидовых ассоциациях (рис. 30). В результате переселения этих муравьев на новый участок происходит реорганизация сложившихся симбиотических связей аборигенных видов муравьев. Взаимодействуя с большим количеством видов тлей, рыжие лесные муравьи способствуют их выживанию и увеличению численности на данной территории, что приводит к формированию трофобиотических связей этих тлей с муравьями других видов.

Коллективом молодых сотрудников того же института при изучении локального репродуктивного поселения водяных полевоек выявлен комплекс факторов, определяющих динамику пространственной структуры группировки, интенсивности внутривидовой конкуренции и морфофизиологических характеристик самок. К значимым абиотическим факторам относятся уровень

В Институте биологических проблем криолитозоны проведены лишенофлористические и лишеноиндикационные исследования в наиболее интенсивно освоенной части региона — Центральной Якутии (Средняя Лена). Район исследования характеризуется топливно-энергетическими, минерально-сырьевыми ресурсами, хорошо развитым агропромышленным комплексом, имеет крупные населенные пункты и промышленные центры и в целом испытывает достаточно мощный антропогенный пресс. Выявленная в районе исследования флора насчитывает 98 видов лишайников из 32 родов, 11 семейств, относящихся к 4 порядкам. Ведущее положение занимают семейства Parmeliaceae (30 видов) и Cladoniaceae (24 вида), роды *Cladonia* (19), *Peltigera* (9), *Lecanora* (5). Лишенофлора характеризуется как бореальная.

Лишеноиндикационные исследования проводились по общепринятой методике в окрестностях г. Якутска, Кангаласского угольного разреза, Табагинского лесокомбината, Мохсогolloхского цементного завода, Покровского кирпичного завода и ресурсного резервата «Кэнкэмэ». Изучена группа эпифитных лишайников-индикаторов (31 вид), из числа которых выделено пять классов палеотолерантных лишайников (рис. 32), т. е. видов, заселяющих местообитания от естественных до очень сильно антропогенно измененных. Среднее проективное покрытие лишайников на березе составляет 6,4 % от площади дерева; на лиственнице — 4,45 %. Также выявлены лишайники, выносливые к максимально возможному загрязнению, устойчивые и чувствительные к загрязнению.

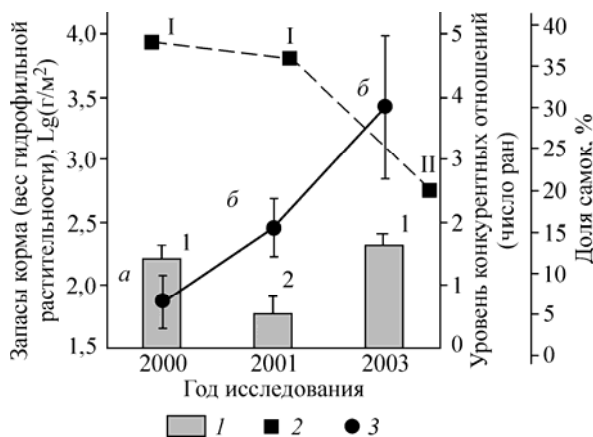


Рис. 31. Межгодовая изменчивость ресурсного обеспечения и уровня конкурентных отношений самок в локальном поселении водяных полевок.

1 — запасы корма; 2 — доля самок в локальном поселении; 3 — уровень конкурентных отношений. Буквами и цифрами обозначена достоверность различий.

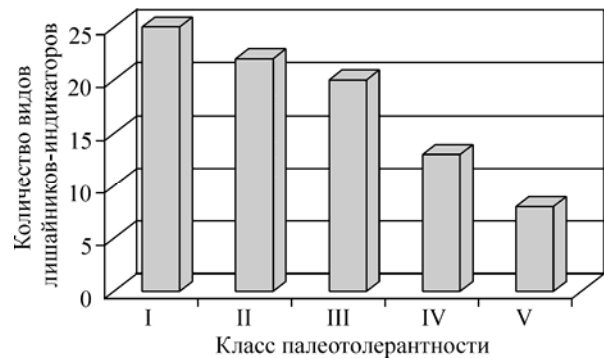


Рис. 32. Классы палеотолерантных лишайников Средней Лены.

I — естественные местообитания; II — слабо антропогенно измененные местообитания; III — умеренно антропогенно измененные местообитания; IV — сильно антропогенно измененные местообитания; V — очень сильно антропогенно измененные местообитания.