

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ В. И. ВЕРНАДСКОГО»

## **СБОРНИК ТЕЗИСОВ УЧАСТНИКОВ**

V научно-практической конференции  
профессорско-преподавательского состава,  
аспирантов, студентов и молодых ученых

**«ДНИ НАУКИ КФУ им. В.И. ВЕРНАДСКОГО»**

**ТАВРИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ**

---

(наименование структурного подразделения/филиала)

**СЕКЦИЯ: «БИОХИМИЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ  
БИОЛОГИЯ»**

г. Симферополь 2019 год

V научно-практическая конференция профессорско-преподавательского состава, аспирантов, студентов и молодых ученых «**Дни науки КФУ им. В.И. Вернадского**» / Сборник тезисов участников/ Секция «Биохимия и молекулярная биология » // Симферополь, 2019

В сборник включены доклады участников V научно-практической конференции профессорско-преподавательского состава, аспирантов, студентов и молодых ученых «Дни науки КФУ им. В.И. Вернадского», отражающие достижения научных и практических изысканий в сфере естественных, гуманитарных, технических наук и информационных технологий.

Работы публикуются в редакции авторов. Ответственность за достоверность фактов, цитат, собственных имен и других сведений несут авторы.

СЕКЦИЯ «БИОХИМИЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ»

---

(наименование секции)

РОЛЬ ТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА В ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ  
ПРОТЕИНОВ В ЭРИТРОЦИТАХ В УСЛОВИХ РАЗВИТИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО  
СТРЕССА

Большакова А. А.<sup>1</sup> Коношенко С. В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>студентка кафедры биохимии факультета биологии и химии Таврической академии КФУ  
научный руководитель: д. б. н., профессор Коношенко С.В.

[niutka98@mail.ru](mailto:niutka98@mail.ru)

**Введение.** Одной из проблем современной биологии и медицины является выяснение молекулярных основ развития окислительного стресса, изучение влияния на эти процессы факторов различной природы. Развитие окислительного стресса осуществляется при многих заболеваниях, что связано с нарушением прооксидантно-антиоксидантного равновесия и усиленным генерированием активных форм кислорода (АФК). Как показано в работах Меньшикова Е. Б., Владимирова Ю. А., Азизовой О.А., под действием активных форм кислорода в клетках организма осуществляются различные деструктивные изменения в частности, окислительная модификация протеинов. Ряд работ свидетельствуют о том, что при многих заболеваниях в патологический процесс вовлекаются эритроциты. Учитывая, что образование метформы гемоглобина связано с генерированием АФК, можно предположить вполне очевидную связь между процессом окислительной модификации протеинов, в частности гемоглобина и метгемоглобинообразованием.

В настоящее время остаётся недостаточно изученным вопрос о влиянии на процессы окислительной модификации протеинов такого фактора как температура.

В связи с этим, **целью** настоящей работы являлось изучение роли температурного фактора в окислительной модификации протеинов в эритроцитах в динамике развития окислительного стресса. В **задачи** работы входило изучение образования продуктов окислительной модификации протеинов в гемолизате эритроцитов практически здоровых людей в динамике инкубации эритроцитов в среде Фентона при температуре 4°C и 37°C.

Материалом для исследования служили эритроциты практически здоровых людей (10 человек в возрасте от 28 до 35 лет), кровь которых брали на базе ГБУЗ РК «Центр крови» г. Симферополя.

Эритроциты гемолизировали по методу Драбкина. В гемолизате эритроцитов определяли содержание продуктов окислительной модификации протеинов, используя биохимический метод, основанный на спектрофотометрической идентификации 2,4 – динитрофенилгидразонов аминокислотных остатков, представляющих собой альдегидные и кетонные производные аминокислот нейтрального и основного характера, при длинах волн 356 нм, 370 нм, 430 нм и 530 нм.

В целях моделирования окислительного стресса эритроциты инкубировали в среде Фентона, содержащей 10 мМ FeSO<sub>4</sub> и 3 мМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, в течение 2, 4 и 6 часов при температуре 4°C и 37°C. Полученные данные обрабатывали статистически с применением t-критерия Стьюдента.

**Результаты исследования.** Как показали результаты исследования при инкубации эритроцитов в среде Фентона при 4°C в течение 2-х часов наблюдается тенденция к увеличению содержания в гемолизате эритроцитов альдегидных и кетонных продуктов окислительной модификации протеинов как основного, так и нейтрального характера. Более длительная инкубация эритроцитов в этих условиях, в течение 4-х и 6-ти часов, приводила к существенному увеличению всех спектрофотометрически идентифицированных продуктов окислительной модификации протеинов. Через 4 часа инкубации эритроцитов содержание альдегидных и кетонных продуктов нейтрального характера увеличивалось на 31,0% и 37,4% по сравнению с контролем, содержание альдегидных и кетонных продуктов основного характера возрастало на 20,3% и 52,6%, соответственно. Через 6 часов инкубации эритроцитов в среде Фентона наблюдалось дальнейшее увеличение уровня содержания продуктов окислительной модификации протеинов: альдегидных и кетонных продуктов нейтрального характера в 1,7 раза, альдегидных и кетонных продуктов основного характера в 1,4 раза и в 1,9 раза по сравнению с контролем.

При инкубации эритроцитов в среде Фентона при температуре 37°C процессы окислительной модификации протеинов осуществлялись гораздо более интенсивно. Так, через 2 часа инкубации эритроцитов содержание альдегидных и кетонных продуктов нейтрального характера достоверно возрастало в 1,6 и в 1,5 раза, соответственно, по сравнению с контролем; содержание альдегидных и кетонных продуктов основного характера увеличивалось на 13,5% и 21,0% по сравнению с контролем. Различия в содержании продуктов окислительной модификации протеинов основного характера проявлялись на уровне тенденции.

Через 4 часа инкубации эритроцитов в среде Фентона содержание альдегидных и кетонных продуктов нейтрального характера увеличивалось в 2,5 и в 2,0 раза по сравнению с контролем; содержание альдегидных и кетонных продуктов основного характера возрастало в 2,0 и в 1,9 раза, соответственно. Через 6 часов инкубации эритроцитов наблюдалось некоторое снижение уровня продуктов окислительной модификации протеинов по сравнению с предыдущими значениями показателей (4 часа инкубации). Тем не менее, содержание альдегидных и кетонных продуктов нейтрального характера превышало уровень контроля в 1,7 и в 1,8 раза, а содержание альдегидных и кетонных продуктов основного характера превышало уровень контроля в 1,5 раза.

Наблюдаемое нами снижение уровня содержания продуктов окислительной модификации протеинов через 6 часов инкубации эритроцитов в среде Фентона можно объяснить глубокими деструктивными процессами, связанными с возможным распадом белковых молекул и дальнейшим удалением их некоторой доли в процессе эксперимента (отмывание протеинового осадка этилацетатно-спиртовой смесью).

Сопоставляя данные, полученные при инкубации эритроцитов в среде Фентона при 4°C и 37°C можно отметить, что при более высокой температуре процессы окислительной модификации протеинов приобретает более высокий уровень интенсивности. Поскольку окислительная модификация протеинов осуществляется под действием активных форм кислорода, главным образом, радикальной природы, вполне правомерно сделать предположение о том, что температурный фактор является одним из тех, которые влияют на генерирование АФК не только в эритроцитах, но и в других биологических средах.

Определенный интерес представляет также тот факт, что при температуре 4°C интенсивность образования альдегидных и кетонных продуктов как нейтрального, так и основного характера была практически одинакова, тогда как при 37°C проявляется более выраженное образование продуктов окислительной модификации протеинов нейтрального характера. На основании этого можно предположить, что с повышением температуры возрастает внутримолекулярная динамика протеинов и в результате таких изменений более глубокие участки белковых молекул, в которых возрастает присутствие неполярных аминокислотных участков, становятся более уязвимыми для действия АФК.

**Заключение.**

На основании результатов исследований можно сделать следующие выводы:

1. С повышением температуры от 4°C до 37°C в эритроцитах возрастает интенсивность окислительной модификации протеинов, о чём свидетельствует более выраженное образование альдегидных и кетонных продуктов модификации как нейтрального, так и основного характера.
2. Повышение температуры сдвигает процессы окислительной модификации протеинов в эритроцитах в направлении большего образования альдегидных и кетонных продуктов нейтрального характера, что может быть связано с увеличением доступности более глубоких участков белковых молекул для действия АФК.

## КОНЦЕПЦИЯ ДНК-ИНСЕКТИЦИДОВ: ЭКОЛОГИЗАЦИЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ НА ОСНОВЕ ПОСТГЕНОМНОГО ПОДХОДА

Оберемок В.В.<sup>1,2</sup>, Лайкова Е.В.<sup>3,7</sup>, Усеинов Р.Ж.<sup>4</sup>, Краснодубец А.М.<sup>5</sup>, Лоскутова Н.В.<sup>5</sup>, Гальчинский Н.В.<sup>4</sup>, Назаров С.А.<sup>5</sup>, Новиков И.А.<sup>4,7</sup>, Сердюкова О.А.<sup>5</sup>, Юрченко К.А.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>доцент кафедры биохимии, факультет биологии и химии, Таврическая академия КФУ

<sup>2</sup>старший научный сотрудник ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН»

<sup>3</sup>ассистент кафедры биохимии, Медицинская академия КФУ

<sup>4</sup>аспирант кафедры биохимии, факультет биологии и химии, Таврическая академия КФУ

<sup>5</sup>магистр кафедры биохимии, факультет биологии и химии Таврическая академия КФУ

<sup>6</sup>аспирант ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН»

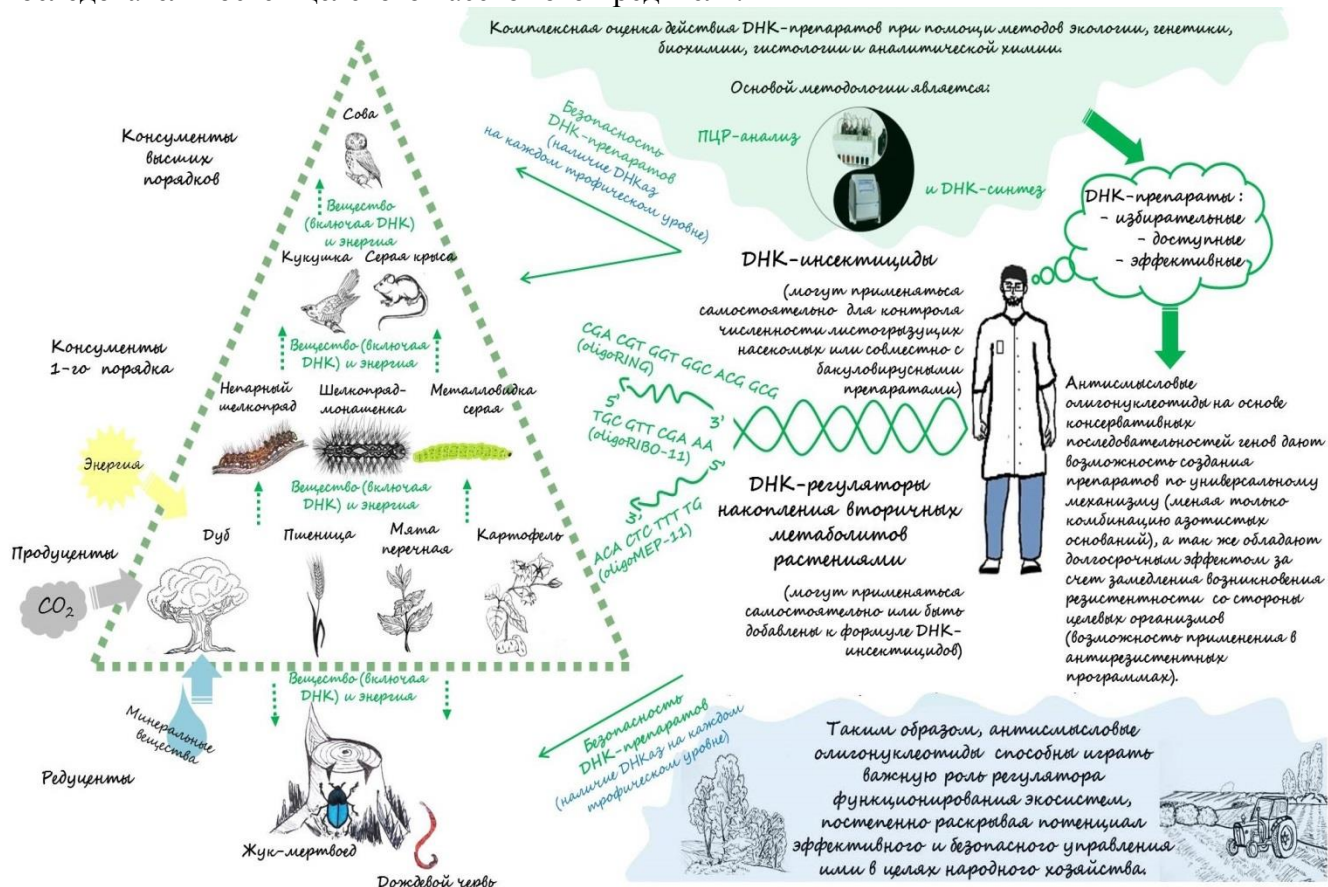
<sup>7</sup>научный сотрудник ФГБУН «НИИСХ Крыма»

genepcr@mail.ru

Все биологические компоненты экосистем (продуценты, консументы, редуценты) связаны между собой большим количеством экологических связей. Вовлекаемые в трофические цепи химические инсектициды становятся более подвижными, выходят за район первичного применения, биоаккумулируются и биотрансформируются, в некоторых случаях формируя более токсичные вещества. Кроме этого, проникновение в глубокие слои почвы пестицидов приводит к загрязнению грунтовых вод. Так как большинство современных химических инсектицидов имеют сравнительно длительный период полураспада, то происходит прирост концентрации целевого химического агента в экосистеме при переходе от низкого к более высокому трофическому уровню. В результате применения стойких химических инсектицидов в сельском и лесном хозяйстве будет всегда иметь место отравление ими участников трофических уровней водных и наземных экосистем, где для большинства химических агентов (ксенобиотиков) нет ферментов, которые способны катализировать их быстрое разложение. Таким образом, единственным безопасным способом контроля численности листогрызущих насекомых является применение природных молекул, способных быть безопасными и эффективными одновременно.

Разрабатываемые нашей научной группой ДНК-инсектициды (Oberemok et al., 2019; Oberemok et al., 2018; Oberemok et al., 2017; Oberemok et al., 2016; Oberemok et al., 2015; Zaitsev et al., 2015; Oberemok et al., 2014; Oberemok et al., 2013; Oberemok et al., 2011) обладают высоким уровнем экологичности по той причине, что на каждом трофическом уровне у целевых и нецелевых организмов имеются ферменты дезоксирибонуклеазы (ДНКазы), осуществляющие быстрый (в течение суток) распад ДНК-инсектицидов в клетках. По сути, ДНК-инсектициды регулируют поступление вещества и энергии от продуцентов к

человеку, минуя целевых насекомых-вредителей, с целью получения прироста урожая в сельском и лесном хозяйстве. Вещество, поступающее от продуцентов к человеку, содержит прежде всего углеводы, белки, жиры и нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК). А на насекомое при этом попадает количество ДНК-инсектицида равное 0,1-0,2% его собственной ДНК. Таким образом, внося в экосистему толику ДНК в качестве ДНК-инсектицидов, мы, образно говоря, вносим каплю чистой воды в океан (рисунок 1). Таким образом, целью нашей работы является разработка ДНК-препаратов, действующих и метаболизирующихся по созданным природой молекулярным механизмам, которые способны снизить в экосистемах концентрацию современных химических инсектицидов – органических ксенобиотиков.



Очевидно, что будет невозможным применение контактных ДНК-инсектицидов против некоторых групп насекомых, в частности имаго жуков, потому что массивные надкрылья могут обеспечить надёжную защиту от контакта с препаратом. ДНК-инсектициды

выглядят подходящим видоспецифичным инструментом контроля численности большинства чешуекрылых-вредителей, которые не ведут скрытный образ жизни на стадии младших личиночных возрастов. На примере ДНК-инсектицидов можно говорить о том, что антисмысловые олигонуклеотиды способны играть важную роль регулятора функционирования экосистем и постепенно раскрывают свой потенциал эффективного и безопасного управления ими в целях народного хозяйства (Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №19-316-00063).

## ИССЛЕДОВАНИЕ СМЕРТНОСТИ ЗАРАЖЁННЫХ ВЯП НШ ГУСЕНИЦ, ОБРАБОТАННЫХ ОДНОЦЕПОЧЕЧНОЙ И ДВУХЦЕПОЧЕЧНОЙ ФОРМОЙ OLIGORING-ИНСЕКТИЦИДА

Назаров С.А.<sup>1</sup>, Гальчинский Н.В.<sup>2</sup>, Оберемок В.В.<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>магистр кафедры биохимии, факультет биологии и химии, Таврическая академия КФУ

<sup>2</sup>аспирант кафедры биохимии, факультет биологии и химии, Таврическая академия КФУ

<sup>3</sup>доцент кафедры биохимии, факультет биологии и химии, Таврическая академия КФУ

<sup>4</sup>старший научный сотрудник ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН»  
puplivebros@yandex.ua

РНК-интерференция стала важным инструментом для снижения или изменения профилей экспрессии генов видоспецифическим образом. В последнее десятилетие были проведены масштабные исследования по применению РНК-интерференции в защите растений (Alamalakala et al., 2018), внесшие огромный вклад в развитие функциональной геномики у насекомых (Palli, 2014).

В настоящее время нами параллельно создаются препараты на основе коротких одноцепочечных фрагментов ДНК – ДНК-инсектициды (Оберемок, 2008; Oberemok, Skorokhod, 2014; Oberemok et al., 2016). Мы видим большое преимущество нашего подхода в использовании коротких (длиной около 11-18 нуклеотидов) антисмысловых фрагментов ДНК в качестве инсектицидов по сравнению с относительно длинными фрагментами двухцепочечных РНК, на которых сконцентрировались западные учёные (Gu, Knipple, 2013; Lundgren, Duan, 2013).

Чтобы провести параллель с использованием РНК-препаратов на основе двухцепочечных РНК-фрагментов, было решено исследовать смертность заражённых ВЯП НШ гусениц и обработанных водой, oligoRING-фрагментом (5'-CGACGTGGTGGCACGGCG-3') – одним из первых, созданных нами ДНК-инсектицидов, а также двухцепочечным фрагментом ДНК – дц(oligoRING), состоящим из oligoRING-фрагмента и комплементарного ему смыслового фрагмента (5'-CGCCGTGCCACCACGTTCG-3'). Было использовано 5 яйцекладок, которые были рандомизированы и вышедшие из яиц гусеницы были использованы для экспериментов. Смертность в безвирусном контроле на 7-й день составила 14,8%. Перед обработкой ДНК-олигонуклеотидами (3 пмоль на гусеницу) насекомых содержали в течение 2-х дней на питательной среде, содержащей  $2 \times 10^3$  вирусных полиэдров препарата "Пинквир" (Россия) на 1 мг среды, а после заражения – на безвирусной среде. Зараженность гусениц ВЯП НШ была показана методом ПЦР со специфическими праймерами к гену капсида р39 ВЯП НШ (Oberemok et al., 2016) и составила 40% на 5 день после окончания 2-дневного периода заражения. Эксперимент был проведён через 2 дня после заражения в 3-х повторностях по 20 особей для одной повторности каждого варианта эксперимента. На 7-й день после обработки достоверная смертность гусениц по сравнению с

контролем была обнаружена только в группе "oligoRING" ( $\chi^2=4,78$ ;  $df=1$ ;  $N=120$ ;  $p<0,05$ ) (табл. 1).

Таблица 1. Смертность зараженных ВЯП НШ гусениц шелкопряда на 7-ой день эксперимента после контактной обработки ДНК-олигонуклеотидами

|          | Контроль         | oligoRING          | дц(oligoRING)    |
|----------|------------------|--------------------|------------------|
| 7-й день | $68,3 \pm 8,8\%$ | $86,7 \pm 8,8\%^*$ | $81,7 \pm 6,1\%$ |

\*Достоверность смертности заражённых ВЯП НШ гусениц в группе "oligoRING" против заражённого контроля обозначена \* при  $p<0,05$

Таким образом, дцДНК-фрагмент не оказался более эффективным в снижении выживаемости насекомого по сравнению с антисмысловым oligoRING-фрагментом хотя и проявил заметную тенденцию. Имеется дополнительный ряд преимуществ в использовании коротких (длиной 11-20 нуклеотидов) антисмысловых фрагментов ДНК по сравнению с РНК-препаратами. Это связано с тем, что относительно длинные фрагменты РНК (в большинстве случаев  $>200$  п.н.) непредсказуемо расщепляются в клетках на малые интерферирующие РНК (длиной около 21-23 нуклеотидов), многие из которых совпадают с геномными участками нецелевых организмов (Lundgren, 2013; Zotti, 2015). Сейчас это практически непреодолимый барьер, приводящий к невозможности гарантировать специфичность и высокий уровень экологичности действия препаратов, основывающихся на РНК-интерференции, что значительно снижает перспективы их использования в качестве видоспецифичных инсектицидов. Кроме этого, синтез РНК сегодня на порядок дороже, чем синтез ДНК. Данный факт также добавляет существенную актуальность разработкам по созданию ДНК-инсектицидов (Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №19-316-00063).

#### ИЗУЧЕНИЕ ИНСЕКТИЦИДНОГО ЭФФЕКТА OLIGORING- и OLIGOBIR-ФРАГМЕНТА IAP-3-ГЕНА ВЯП НШ НА БЕЗВИРУСНЫХ И ЗАРАЖЁННЫХ ВЯП НШ ГУСЕНИЦАХ ШЕЛКОПРЯДА-МОНАШЕНКИ *LYMANTRIA MONACHA*

Гальчинский Н.В.<sup>1</sup>, Оберемок В.В.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>аспирант кафедры биохимии, факультет биологии и химии, Таврическая академия КФУ

<sup>2</sup>доцент кафедры биохимии, факультет биологии и химии, Таврическая академия КФУ

<sup>3</sup>старший научный сотрудник ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН»  
pcr.product@gmail.com

После успешных экспериментов с oligoRING-фрагментом и oligoBIR-фрагментом IAP-3-гена вируса ядерного полиэдрома (ВЯП) на заражённых ВЯП гусеницах непарного шелкопряда (НШ) *Lymantria dispar* (Oberemok et al., 2016), было сделано предположение, что эффект повышения смертности заражённых ВЯП НШ насекомых при контактном применении может проявиться и на близкородственном непарному шелкопряду виде из того же рода – шелкопряде-монашенке *L. monacha*. Шелкопряд-монашенка является серьёзным вредителем-полифагом, кормовой базой для которого являются виды, принадлежащие к родам *Quercus*, *Salix*, *Carpinus*, *Tilia*, *Fagus*, *Picea* и *Pinus*. Распространён шелкопряд-

монашенка в большинстве частей Европы (Vanhanen et al., 2007). В отличие от непарного шелкопряда, является серьёзной угрозой для хвойных деревьев (Nakladal, Brinkeova, 2015).

Перед обработкой ДНК-олигонуклеотидами гусениц кормили в течение 2-х дней на питательной среде, содержащей  $10^4$  вирусных полиэдров препарата "Вирин ЭНШ" (Кыргызстан) на 1 мг среды, а после заражения – на безвирусной среде. В эксперименте использовались гусеницы 3-х яйцекладок. Смертность в безвирусном контроле на 11-й день составила 27,8%. Возможно, что питательная среда на основе проростков пшеницы не соответствуют нормальному рациону гусениц, которые отдают предпочтение хвойным, вследствие чего была отмечена достаточно высокая смертность в контрольной группе. Однако в природных условиях гусеницы также могут испытывать влияние различных стресс-факторов, которые будут снижать их жизнеспособность. Таким образом, такой эксперимент, когда наблюдается сравнительно высокая смертность в контроле, близок к реальным условиям и также ценен в практическом плане.

Таблица 1. Статистический анализ инсектицидного эффекта ДНК-олигонуклеотидов на безвирусных и заражённых ВЯП НШ гусениц шелкопряда-монашенки на 3-й день эксперимента

| Экспериментальные группы |                               | $\chi^2$ –значения | Число гусениц в паре сравниваемых групп |
|--------------------------|-------------------------------|--------------------|-----------------------------------------|
| Безвирусные насекомые    | oligoBIR+oligoRING и контроль | 0,19               | 50                                      |
|                          | oligoA и контроль             | 0,16               | 50                                      |
| Заражённые насекомые     | oligoBIR+oligoRING и контроль | 7,39*              | 89                                      |
|                          | oligoA и контроль             | 1,92               | 85                                      |

\*Достоверность смертности заражённых ВЯП НШ гусениц в группе "oligoBIR+oligoRING" против заражённого контроля обозначена \* при  $p < 0,01$

Безвирусные насекомые во всех группах эксперимента показали смертность в пределах 16,7-33,3% в течение 11 дней эксперимента, которая была недостоверна по сравнению с контрольной группой (вода). После 2-дневного заражения насекомые были обработаны oligoBIR-фрагментом и oligoRING-фрагментом антиапоптозного IAP-3-гена ВЯП НШ, по 15 пмоль каждого из ДНК-олигонуклеотидов на 1 гусеницу, которые уже на 3-й день после применения показали достоверную смертность по сравнению с контролем, 45,1% против 14,3% соответственно ( $\chi^2=7,39$ ;  $df=1$ ;  $N=89$ ;  $p < 0,01$ ) (табл. 1). К 11 дню смертность возросла и составила 85,5%, 78,3 % и 62,6 % в группе с фрагментами IAP-3-гена (oligoBIR-фрагмент+oligoRING-фрагмент), oligoA-фрагмента и контрольной группы соответственно. Только в группе "oligoBIR+oligoRING" смертность оказалась достоверно выше по сравнению с контролем ( $\chi^2=5,64$ ;  $df=1$ ;  $N=89$ ;  $p < 0,05$ ) (рисунок 1).

Таким образом, к 11 дню эксперимента на фоне бакуловирусной инфекции в группе "oligoBIR+oligoRING" была обнаружена смертность на 58,2% больше, чем в безвирусном контроле ( $\chi^2=26,31$ ;  $df=1$ ;  $N=67$ ;  $p < 0,0001$ ), тогда как в заражённом контроле она была только на 34,8% больше, чем в контроле без вируса ( $\chi^2=13,36$ ;  $df=1$ ;  $N=68$ ;  $p < 0,001$ ). Данный подход помогает использовать только один вид бакуловируса и ДНК-фрагменты его антиапоптозного IAP-3-гена ВЯП НШ для контроля численности близкородственного непарному шелкопряда вида – шелкопряда-монашенки. Нужно отметить, что этот новый подход к применению бакуловирусов и их фрагментов IAP-генов может составить

конкуренцию разработкам по созданию препаратов на основе рекомбинантных вирусов, которые ещё пока не вышли на рынок.

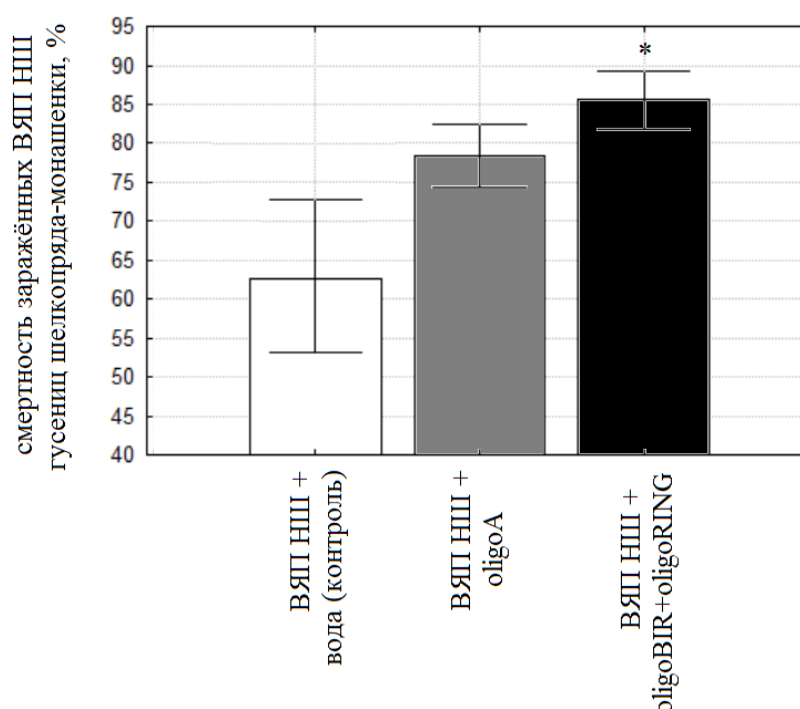


Рисунок 1. Средняя смертность заражённых ВЯП НШ гусениц шелкопряда-монашенки через 11 дней после их контактной обработки водой и ДНК-олигонуклеотидами (oligoA-фрагментом и oligoBIR-фрагментом+oligoRING-фрагментом). Достоверность смертности насекомого в группе "oligoBIR+oligoRING" против контроля обозначена \* при  $p < 0,05$ . Эффективность заражения гусениц ВЯП НШ была показана методом ПЦР со специфическими праймерами к гену капсида р39 ВЯП НШ и составила 33,3% на 5-й день после окончания 2-дневного периода заражения.

(Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №19-316-00063).

## ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРВИЧНОГО ПРОЦЕССА ПЕРЕКИСИСНОГО ОКСИЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ ЧЕРНОМОРСКОГО МОЛЛЮСКА *MYTILLUS GALLOPROVINCIALIS* LAM.

Джураева В.Д.<sup>1</sup>, Залевская И.Н.<sup>2</sup>, Жолудева В.К.<sup>3</sup>,

<sup>1</sup>студент магистр кафедры экологии и зоологии ТА ФГАОУ ВО КФУ

<sup>2</sup>кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии ТА ФГАОУ ВО КФУ

<sup>3</sup>студент магистр кафедры экологии и зоологии ТА ФГАОУ ВО КФУ

[vika.dzhuraeva.97@mail.ru](mailto:vika.dzhuraeva.97@mail.ru)

**Введение.** В последние десятилетия экосистема Черного моря претерпевает существенные трансформации в ответ на глобальные климатические изменения (режимов ветров, атмосферных осадков, температуры) и разнообразные антропогенные воздействия.

В гидробиологии получили широкое распространение балансовые методы изучения энергетического обмена гидробионтов. Основным (модельным) объектом исследования для

черноморского региона стал двустворчатый моллюск *Mytillus galloprovincialis* Lam., как наиболее массовый ценозообразующий вид, используемый для промышленного выращивания. Особого внимания заслуживают исследования динамики процессов перекисного окисления липидов у *Mytillus galloprovincialis* Lam.

Состояние антиоксидантного (АО) комплекса и уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) в тканях двустворчатых моллюсков взаимосвязаны с особенностями их жизнедеятельности. Высокая фильтрационная активность и постоянный контакт с многочисленными растворенными в воде веществами, вероятно, способствовали формированию у данной группы организмов в ходе эволюционного процесса эффективного АО комплекса и сбалансированного соотношения его активности с уровнем ПОЛ в тканях.

Двустворчатые моллюски отвечают всем требованиям, предъявляемым к организмам-биомониторам. Они активно используются в диагностике состояния водной среды, особенно представители рода *Mytilus*. Считается, что контроль за состоянием АО ферментного комплекса тканей моллюсков-фильтраторов позволяет косвенно судить о качестве морских акваторий.

**Целью** данной работы явилось изучение содержания первичных продуктов ПОЛ в различных тканях мидий, обитающих в Карантинной бухте г. Севастополя.

**Методика исследования.** Объектом исследования служили половозрелые особи мидии черноморского моллюска *Mytillus galloprovincialis* Lam. (далее мидия) черной морфы с длиной раковины 54-68 мм.

Биологический материал получали путем гомогенизации тканей мидии (гепатопанкреас, жабры, нога, гонады) с физраствором в соотношении 1:5. Об активности процессов ПОЛ судили по содержанию ненасыщенных липидов (212 нм), диеновых конъюгатов (232 нм) и кетодиенов (273 нм). Определяли содержание первичных продуктов ПОЛ методом Гаврилова В.Б. и Мишкорудной М.И. [3]. Полученные результаты обрабатывали статистически с помощью t-критерия Стьюдента. Различия между сравниваемыми рядами считали достоверными и статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

**Результаты и обсуждение исследования.** С целью выявления взаимосвязи между продуктами перекисного окисления липидов, уровнем загрязнения исследуемой бухты г. Севастополя и накоплением в разных тканях мидий, были изучены показатели первичных продуктов ПОЛ, таких как: насыщенные липиды, диеновые конъюгаты, кетодиены (табл. 1).

*Гепатопанкреас.* Анализ предоставленных данных в табл. 1 показывает, что содержание первичных продуктов в экстракте этой ткани мидий черной морфы уменьшается с увеличением длины волны  $212 \rightarrow 233 \rightarrow 273$ . При этом отмечены достоверные различия в показателях ПОЛ в сравнении с другими тканями, которые можно охарактеризовать следующим образом: содержание насыщенных липидов в сравнении с жабрами меньше в 0,3 раза ( $p \leq 0,01$ ), а с гонадами меньше в 0,6 раз ( $p \leq 0,01$ ).

Таблица 1.

Сравнительная характеристика содержания первичных продуктов ПОЛ в экстрактах различных тканях мидий черной морфы, обитающий в Карантинной бухте г. Севастополя

| Длина волны,<br>нм | Ткань       |             |                |             |                |                |             |                |                |                |
|--------------------|-------------|-------------|----------------|-------------|----------------|----------------|-------------|----------------|----------------|----------------|
|                    | ГЕП         | Жабры       | P <sub>1</sub> | Нога        | P <sub>2</sub> | P <sub>3</sub> | Гонады      | P <sub>4</sub> | P <sub>5</sub> | P <sub>6</sub> |
| 212                | 0,296±0,015 | 0,398±0,026 | 0,01           | 0,194±0,017 | н\д            | н\д            | 0,529±0,019 | 0,01           | 0,01           | н\д            |
| 233                | 0,249±0,025 | 0,409±0,046 | н\д            | 0,219±0,021 | н\д            | н\д            | 0,533±0,026 | н\д            | 0,05           | н\д            |
| 273                | 0,048±0,004 | 0,165±0,011 | н\д            | 0,095±0,013 | н\д            | н\д            | 0,252±0,007 | н\д            | н\д            | 0,01           |

Примечание: ГЕП-гепатопанкреас; n-число особей; достоверность различий между тканями: P<sub>1</sub>- ГЕП-жабры, P<sub>2</sub>- ГЕП-нога, P<sub>3</sub>-жабры-нога, P<sub>4</sub>-ГЕП-гонады, P<sub>5</sub>-жабры- гонады, P<sub>6</sub>- нога-гонады.

*Жабры.* Содержание диеновых конъюгатов выше в 1,03 раз, чем насыщенных липидов, а содержание кетодиенов меньше в 2,5 раза. Отмечается также достоверное различие в показателях ПОЛ в сравнении с другими тканями, которые можно охарактеризовать следующим образом: содержание насыщенных липидов в сравнении с гонадами меньше в 0,7 раз ( $p \leq 0,01$ ), а диеновых конъюгатов меньше в 0,7 раз ( $p \leq 0,01$ ).

*Нога.* Зависимость изменения содержания первичных продуктов ПОЛ схоже с жабрами, а именно: содержание диеновых конъюгатов выше в 1,1 раз, чем насыщенных липидов, а содержание кетодиенов меньше в 2,3 раза. При этом отмечены достоверные различия в показателях ПОЛ в сравнении с другими тканями, которые можно охарактеризовать следующим образом: содержание кетодиенов в сравнении с гонадами меньше в 0,37 раза ( $p \leq 0,01$ ).

*Гонады.* Данные таблиц показывает, что уровень первичных продуктов ПОЛ в экстрактах этой ткани мидий черной морф, изменяется аналогично тканям жабрам и ноге. При это, во всех длинах волн отмечается наибольшее содержание первичных продуктов ПОЛ в этой ткани.

Результаты, представленные в табл. 2. показывают, что уровень первичных продуктов ПОЛ в экстрактах мидий черной морфы уменьшается с увеличением волны только лишь в гепатопанкреасе. В остальных тканях наблюдается закономерное увеличение содержания от насыщенных липидов к диеновым конъюгатам и уменьшение к кетодиенам. При этом, наибольшее содержание первых продуктов ПОЛ наблюдается в гонадах, а в тканях ноги в 2,7 раза меньше насыщенных липидов, в 2,4 раза меньше диеновых конъюгатов в тканях ноги и в 5,6 раз меньше кетодиенов в тканях гепатопанкреаса.

**Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют о причинно-следственной связи между токсическими эффектами и генерацией клеточного ответа у черноморских моллюсков, обитающих в Карантинной бухте г. Севастополя. Было показано, что основная роль в антиоксидантной защите тканей мидии принадлежит гонадам, в нем установлены наибольшие величины изученных показателей.

Эти молекулярные маркеры демонстрируют перспективность и высокую эффективность для биоиндикации и биомониторинга функционального состояния моллюсков при загрязнении морских и пресноводных экосистем.

## **АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ**

### **Б**

Большакова А. А., 3

### **Г**

Гальчинский Н.В., 5, 7, 8

### **Д**

Джураева В.Д., 10

### **Ж**

Жолудева В.К., 10

### **З**

Залевская И.Н., 10

### **К**

Коношенко С. В., 3

Краснодубец А.М., 5

### **Л**

Лайкова Е.В., 5

Лоскутова Н.В., 5

### **Н**

Назаров С.А., 5, 7

Новиков И.А., 5

### **О**

Оберемок В.В., 5, 7, 8

### **С**

Сердюкова О.А., 5

### **У**

Усеинов Р.Ж., 5

### **Ю**

Юрченко К.А., 5