



# bionano '09



Химическая биология  
фундаментальные  
проблемы  
бионанотехнологии

10–14 июня 2009 года  
Новосибирск

Сибирское отделение Российской академии наук  
Институт химической биологии и фундаментальной медицины

Сборник трудов научной конференции  
**«Химическая биология –  
Фундаментальные проблемы бионанотехнологии»**,

посвященной 25-летию  
Института химической биологии и фундаментальной  
медицины СО РАН

10 – 14 июня 2009

Новосибирск

## **Программный комитет конференции:**

Со-председатели конференции

**Академик РАН Власов В.В. (ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск)**

**Академик РАН Кнорре Д.Г. (ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск)**

Академик РАМН Арчаков А.И. (НИИ БМХ РАМН, г. Москва)

Академик РАН Грачев М.А. (ЛИН СО РАН, г. Иркутск)

Академик РАН Колчанов Н.А. (ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск)

Академик РАМН Козлов В.А. (ГУ НИИКИ СО РАМН, г. Новосибирск)

Академик РАН Макаров А.А. (ИМБ РАН, г. Москва)

Академик РАН Скрябин К.Г. (Центр «Биоинженерия» РАН, г. Москва)

Член-корр. РАН Габибов А.Г. (ИБХ, г. Москва)

Член-корр. РАН Дегерменджи А.Г. (ИБФ СО РАН, г. Красноярск)

Член-корр. РАН Латышев А.В. (ИФП СО РАН, г. Новосибирск)

Член-корр. РАН Нетесов С.В. (НГУ, г. Новосибирск)

Проф. Зенкова М.А. (ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск)

Проф. Говорун В.М. (НИИ ФХМ ФА ЗОСР, г. Москва)

Лисица А.В. (НИИ БМХ РАМН, г. Москва)

Пышный Д.В. (ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск)

## **Организационный комитет конференции**

Руководитель: к.х.н. Пышный Дмитрий Владимирович (ИХБФМ СО РАН)

Секретарь: к.б.н. Кабилов Марсель Расимович (ИХБФМ СО РАН)

к.х.н. Пышная И.А.

к.ф.-м.н. Ломзов А.А.

Виноградова О.А.

Дмитриенко Е.В.

---

ISBN 978-5-902700-16-6

© Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 2009

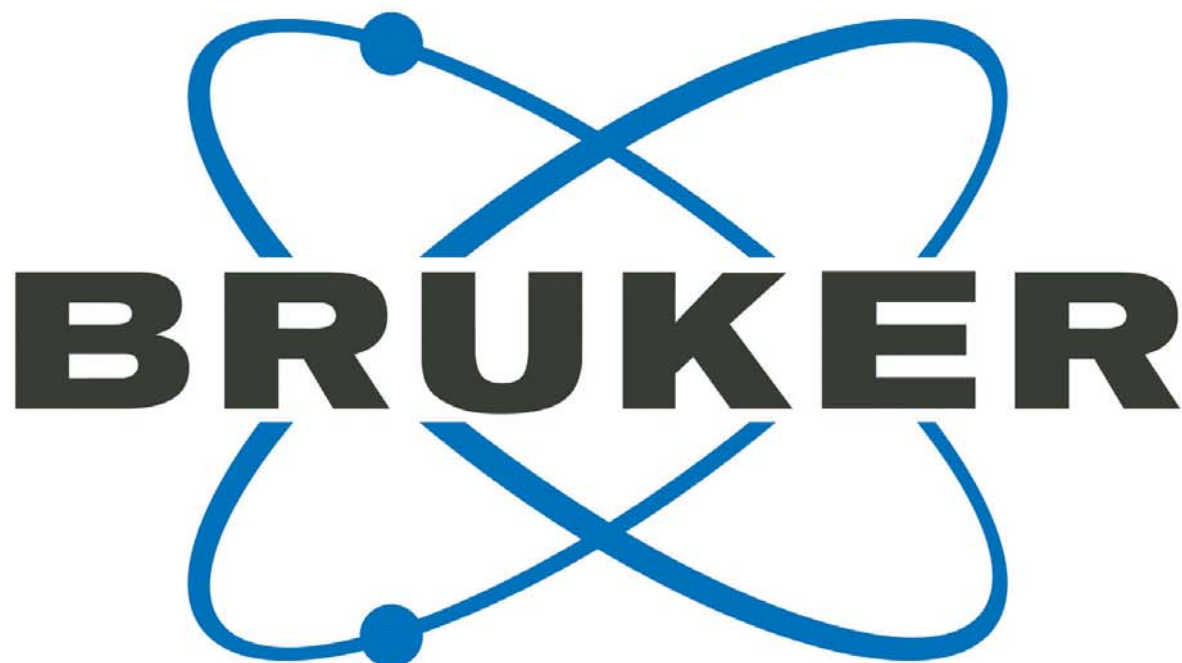
Дорогие коллеги,

1 апреля 2009 г. Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (до 2003 г Новосибирский институт биоорганической химии) отметил 25-ю годовщину своего существования. Однако фактически эту годовщину можно было бы считать 50-ой. Столько лет (даже немного больше) прошло с того момента, когда Николай Николаевич Ворожцов предложил, работавшему в Институте химической физики Академии Наук СССР (ИХФ), Дмитрию Георгиевичу Кнорре поехать с ним из Москвы в организуемый Институт органической химии (НИОХ) и создать в составе этого института лабораторию биохимического профиля, получившую название лаборатории природных полимеров. Эта лаборатория уже тогда задумывалась Н.Н.Ворожцовым как зачаток будущего института, так как будучи широко эрудированным ученым он понимал, что биология является одной из важнейших областей применения органической химии. Уже в 1959 году к ИХФ были прикомандированы первые сотрудники НИОХ для организуемой лаборатории – Виктор Коржов, Тамара Шубина, Слава Василенко. В 1960 году в состав создаваемой лаборатории перешел будущий академик и организатор НПО «Вектор», а в то время младший научный сотрудник НИОХ Лев Сандахчиев. В 1964 году Н.Н. Ворожцов заручился поддержкой Михаил Алексеевича Лаврентьева и получил разрешение на проектирование и строительство специального корпуса для работ в биохимическом направлении. В 1970-ом году корпус был сдан в эксплуатацию, и в нем разместилась лаборатория природных полимеров (переименованная в лабораторию химии нуклеиновых кислот), вошедшая в созданный отдел биохимии. После ухода от дел Н.Н. Ворожцова, а в дальнейшем и М.А. Лаврентьева, вопрос об организации института завис и был реанимирован только в 1981 году, прежде всего благодаря активности вице-президента АН СССР Юрия Анатольевича Овчинникова и поддержки со стороны Валентина Афанасьевича Коптюга, только что ставшего Председателем Сибирского отделения РАН. К этому времени вырос и

научный статус отдела биохимии, были подготовлены и защищены докторские диссертации. Появилась небольшая партийная организация, необходимая в те времена. И в 1981 году в очередном правительственном постановлении о развитии исследований в области физико-химической биологии было предусмотрено создание Новосибирского института биоорганической химии (НИБХ), который и был организован 1-го апреля 1984 года. Д.Г. Кнорре был назначен директором института, его замами по науке и по общим вопросам – Валентин Викторович Власов и Владимир Аркадьевич Ливанов. Кадровый костяк отдела биохимии был дополнительно усилен переходом в институт Николая Павловича Мертвцева, ставшего вторым замом по науке и согласием перейти из НГУ на должность ученого секретаря НИБХ Светланы Дмитриевны Мызиной. В мае под председательством директора был создан диссертационный совет по присуждению ученых степеней кандидата наук, ученым секретарем которого согласилась работать и проработала более 20 лет Ольга Семеновна Федорова.

В 1996 году, в соответствии с действовавшим в то время возрастным цензом на занятие административных должностей, Д.Г. Кнорре оставил пост директора, и на эту должность был избран член-корреспондент РАН (с 2000 года академик) В.В.Власов. Еще на посту заместителя директора, а затем и на посту директора он много сделал для выживания института в трудные для страны и науки 90-е годы прошлого века. По инициативе В.В. Власова, в связи с дублированием названий институтов, НИБХ был переименован в Институт химической биологии и фундаментальной медицины (ИХБФМ). Придавая большое значение использованию достижений фундаментальной науки в медицине, В.В. Власов организовал в составе института, успешно работающий, Центр Новых Медицинских Технологий. Свой 25-летний юбилей институт встретил целым рядом достижений, как в области фундаментальной науки, так и ее приложений, ориентированных на медицину.

**Генеральные спонсоры**



[www.bruker.ru](http://www.bruker.ru)



[www.appliedbiosystems.ru](http://www.appliedbiosystems.ru)

# Определяющие Ваш успех

## Инновационные технологии в масс- спектрометрии



- Ion Trap: серия HCT
- ESI-(Q)-TOF: серия micrOTOF
- UHR-TOF: maXis
- MALDI-TOF/(TOF): серия flex
- FTMS: серия apex ultra

По вопросам приобретения, использования и обслуживания масс-спектрометров Bruker Daltonics обращайтесь к нам! [www.bruker.ru](http://www.bruker.ru)

### Протеомика

- Стратегии Top-down и Bottom-up
- Количественный анализ
- Детальный анализ цельных белков и PTM

### Анализ биомаркеров

- Полное разрешение MALDI Imaging
- Профилирование с помощью LC-MALDI и LC/ESI-MS
- Идентификация бактерий с помощью MALDI Biotyper

### Направленный скрининг

- Профилирование метаболитов с помощью LC/MS
- Дополнительные возможности за счет параллельного ЯМР-анализа
- Определение молекулярных формул *ab initio*

### Малые молекулы/Метаболиты

- Быстрый одновременный скрининг большого числа мишеней
- Судебная токсикология
- Анализ пестицидов и продуктов питания

think forward

### MASS SPECTROMETRY

Bruker Daltonik GmbH  
Бремен, Германия  
Тел. +49 (421) 2205-0  
Факс +49 (421) 2205-103  
[sales@bdal.de](mailto:sales@bdal.de)

ООО „Брукер“  
Москва, Ленинский пр-т, д. 47  
Тел. +7 (495) 502-9006  
Факс +7 (495) 502-9007  
[ms@bruker.ru](mailto:ms@bruker.ru)



## Спонсоры



MICROSYSTEMS

[www.leica-microsystems.ru](http://www.leica-microsystems.ru)



[www.gelifesciences.com](http://www.gelifesciences.com)



[www.beckmancoulter.com](http://www.beckmancoulter.com)



[www.dia-m.ru](http://www.dia-m.ru)



[www.millipore.com](http://www.millipore.com)



[www.beckmancoulter.com](http://www.beckmancoulter.com)



[www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com)



[www.interlabservice.ru](http://www.interlabservice.ru)



[www.helicon.ru](http://www.helicon.ru)



[www.hvd.ru](http://www.hvd.ru)



[www.biosset.com](http://www.biosset.com)



[www.intertech-corp.ru](http://www.intertech-corp.ru)



[www.galachem.ru](http://www.galachem.ru)



[www.westmedica.ru](http://www.westmedica.ru)

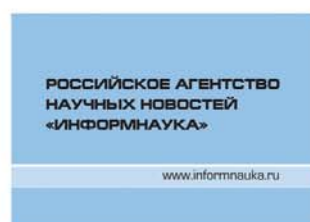


[www.labinstruments.ru](http://www.labinstruments.ru)

## Информационные партнеры



[www.strf.ru](http://www.strf.ru)



[www.informnauka.ru](http://www.informnauka.ru)



## МИРОВОЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА В ОБЛАСТИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

Компания **Applied Biosystems** с более чем 25-летней историей, является мировым лидером в производстве самого современного оборудования и реагентов для анализа ДНК и РНК. Оборудование компании для ПЦР, ПЦР в реальном времени, секвенирования и фрагментного анализа широко применяется для диагностики вирусных и бактериальных инфекций, наследственных и онкологических заболеваний, для HLA-генотипирования, в судебной медицине для определения отцовства и идентификации личности, в эпидемиологии, генетике, биотехнологии (генетически модифицированная продукция), фармакологии и пищевой промышленности.



**Генетические анализаторы (секвенаторы) ABI 3130 / 3130XL / 3730 / 3730XL**

Линейка генетических анализаторов **Applied Biosystems** предлагает полную автоматизацию секвенирования и генотипирования как для небольших лабораторий, так и для крупных Геномных и биотехнологических центров. Благодаря возможности использования различных длин капилляров и видов полимера можно подобрать наиболее подходящую конфигурацию под любой тип анализа – от детекции SNP в мультиплексном режиме до полного секвенирования протяженных фрагментов ДНК. Методом капиллярного электрофореза на генетических анализаторах моделей **ABI 310**, **ABI 3130/3130XL** осуществляют обследование на хромосомные aberrации, поиск новых мутаций и групп мутаций, анализ метилированных фрагментов генома в онкологии, HLA-типирование высокого разрешения. Современные алгоритмы обработки результатов реализованы в виде готовых решений для анализа и сравнения последовательностей, ведения баз данных, генотипирования организмов. Оборудование комплектуется всеми необходимыми реагентами для анализа и расходными материалами.

С 2007 года компанией производится система полногеномного секвенирования **SOLiD™**, наиболее совершенная на сегодняшний день система для твердофазного секвенирования, основанная на новейших методах молекулярной биологии – эмульсионной ПЦР и твердофазном лигировании.



**ПЦР в "реальном времени"**

**ABI 7300 / 7500 / 7500Fast / 7900HT**

Наряду с оборудованием и реагентами для "классической" ПЦР **Applied Biosystems** представляет готовые решения для ПЦР "в реальном времени", позволяющий осуществлять максимально точное количественное определение искомой последовательности ДНК. Метод позволяет осуществлять одновременную детекцию нескольких последовательностей в одном образце (мультиплексная ПЦР на приборах **ABI 7300/7500** и **StepOnePlus™**), а современное оборудование и реагенты для ПЦР в реальном времени позволяют проводить высокопроизводительный анализ экспрессии на проточных панелях (**TaqMan® Low Density Array**), наиболее совершенных аналогах биочипов, анализируемых на оборудовании **ABI 7900HT**. Количественный анализ экспрессии единичных генов или генотипирование SNP методом ПЦР в реальном времени проводится на всех моделях приборов **ABI** с использованием наборов **TaqMan® Gene Expression Assay** (более 800,000 наборов, подобранных для 9 организмов) / **SNP Genotyping Assay** (более 4,5 млн. наборов на SNP человека и мыши). По желанию заказчика можно создать набор **TaqMan®** для генетического анализа любого организма.

Готовые решения для анализа ДНК и РНК, предлагаемые компанией **Applied Biosystems**, включают комплексный набор приборов, реагентов и программного обеспечения для выделения нуклеиновых кислот, пробоподготовки, анализа и обработки данных. Для выделения объектов анализа представлены полуавтоматическая станция выделения **ABI 6100** (для ДНК и РНК из цельной крови, тканей и других объектов исследования), а также реагенты для максимально быстрого "ручного" выделения ДНК из любых образцов.

С 2005 года в состав корпорации вошла РНК-компания **Ambion**, которая представляет полный спектр реагентов и наборов для выделения, обратной транскрипции, амплификации, исследования РНК и микро-РНК в любых организмах и типах образцов.

Адрес Московского представительства: РОССИЯ 117485, Москва, ул.Обручева, 30/1

тел.: (495) 651 67 97 факс: (495) 651 67 99 <http://www.appliedbiosystems.com>

## **Устные доклады**



## КОНСТРУИРОВАНИЕ КОМПОЗИТОВ ПЕПТИДНЫХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ С НАНОЧАСТИЦАМИ ДИОКСИДА ТИТАНА ДЛЯ ИХ ДОСТАВКИ В КЛЕТКИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Амирханов Н.В.<sup>1</sup>, Амирханов Р.Н.<sup>1,2</sup>, Шикина Н.В.<sup>3</sup>, Исмагилов З.Р.<sup>3</sup>,  
Зарытова В.Ф.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

<sup>2</sup>Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, Новосибирск, Россия  
nariman@niboch.nsc.ru

Пептидные нуклеиновые кислоты (ПНК) являются аналогами нуклеиновых кислот, у которых гетероциклические основания соединены N-(2-аминоэтил)-глициновым линкером. ПНК обладают рядом преимуществ перед природными нуклеиновыми кислотами, поскольку образуют более прочные комплементарные дуплексы с НК-мишенями и намного более устойчивы по отношению к клеточным нуклеазам. В связи с этим ПНК являются одними из перспективных аналогов НК, используемых в качестве ген-направленных соединений. Сами по себе ПНК плохо проникают через клеточные мембраны млекопитающих. Ранее для доставки ПНК в клетки нами были использованы короткий фрагмент фактора роста, а также различные гидрофобные флуоресцентные красители, присоединенные к ПНК. Было показано, что ПНК в таком виде способны проникать в клетки, однако они скапливаются в эндосомных компартментах и в большинстве случаев малодоступны для НК-мишеней. Известно, что наноразмерные частицы диоксида титана (TiO<sub>2</sub>) в малых дозах способны обратимо повреждать клеточные мембраны и проникать в клетки. Мы предположили, что TiO<sub>2</sub>-наночастицы, на поверхности которых иммобилизованы смысловые или антисмысловые последовательности ПНК, могут быть использованы для доставки ПНК к НК-мишеням в клетках млекопитающих напрямую в цитозоли клеток без образования эндосомных компартментов. В настоящей работе рассматриваются различные способы иммобилизации ПНК на поверхность TiO<sub>2</sub>-нано частиц, предложенные в нашей лаборатории.

Работа поддержана интеграционным грантом СО РАН № 61 и грантом РФФИ № 08-04-01045-а.

# САМООРГАНИЗАЦИЯ И ТЕМПЛАТНЫЙ СИНТЕЗ В ИЗГОТОВЛЕНИИ КОЛЛОИДНЫХ НАНОМАТЕРИАЛОВ ДЛЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ ПРИЛОЖЕНИЙ

Андреев Д.С.<sup>1</sup>, Arriaga E.A.<sup>2</sup>, Соколов К.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, Россия

<sup>2</sup>University of Minnesota, Minneapolis, USA

<sup>3</sup>University of Texas, Austin, USA

andreyev@lin.irk.ru

Коллоидные частицы сложной структуры востребованы в биомедицинских приложениях в качестве аналитических зондов, эффекторов физических воздействий на клетки и средств доставки лекарств. В частности, представляют интерес субстраты для оптических спектроскопий и частицы, проявляющие физиологическую активность под действием света; магнитные частицы и пустотелые структуры с регулируемой проницаемостью мембран. Соответственно, востребованы методы синтеза и анализа таких структур.

В данной работе продемонстрирована самоорганизация наночастиц на поверхности коллоидных микросфер и нанопроволоки; рассмотрено влияние самоорганизующихся мономолекулярных слоёв на стабильность монослоёв наночастиц и инкапсуляцию частиц и их ансамблей в кремнезём; проведён мониторинг проницаемости капсул с помощью спектроскопии плазмонной экстинкции; показана зависимость плазмонной полосы экстинкции от плотности монослоёв наночастиц и их морфологии; предложены методы биосовместимого удаления металлических и полимерных темплатов.

С использованием вышеописанных эффектов и методов синтезированы и охарактеризованы: 1) оптически активные и магнитные коллоидные ансамбли металлических наночастиц, полимерных микросфер, оксида железа и кремния, способные служить флуоресцентными и ГКР-зондами, а также эффекторами лазерного разрушения клеток; 2) пустотелые кремнезёмные коллоидные структуры с контролируемой проницаемостью мембраны, представляющие интерес в качестве управляемых носителей физиологически активных веществ; 3) пустотелые кремнезёмные коллоидные структуры с трансмембранными каналами [1] - потенциальными гнёздами для мембранных ферментов, таких как АТФаза. Такие комплексы кремнезёмных наноструктур с ферментами могут быть использованы в создании гибридных, биологическо-неорганических функциональных систем на субклеточном уровне.

1 Andreyev, D.; Arriaga, E.A. Fabrication of perforated sub-micron silica shells, *Scripta Materialia* (2007), 57 (10), 957-959

## ЛИПИДНЫЕ КОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ ЦИТОСТАТИКА И НАНОФЕРРОМАГНЕТИКА. ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Антипов С.А.<sup>1</sup>, Дамбаев Г.Ц.<sup>1</sup>, Хлусов И.А.<sup>1</sup>, Федущак Т.А.<sup>2</sup>, Ермаков А.Е.<sup>3</sup>, Уймин М.А.<sup>3</sup>, Мысик А.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

<sup>2</sup>Институт химии нефти СО РАН, Томск, Россия

<sup>3</sup>Институт физики металлов УрО РАН, Екатеринбург, Россия

sibmedz@mail.ru

Использование магнитоуправляемых систем адресной доставки лекарственных препаратов является одним из перспективных направлений в онкологии. Для оксидов железа, которые чаще всего используют как магнитные носители было установлено проявление их токсичности относительно компонентов биологических жидкостей и эффект нарушения передачи электрических импульсов по нейронной сети. Целью работы являлось получение малотоксичных композитов на основе липидных концентратов, цитостатика и наноферромагнетиков в углеродной оболочке; исследование их активности *in vivo* и *in vitro*, а также создание соответствующих приспособлений для управляемой локализации композитов посредством внешнего магнитного поля. В качестве исходных веществ использовали Цисплатин, липидные концентраты животного и растительного происхождения, нанопорошки Fe в пироуглеродной оболочке, полученные методом газофазного синтеза в углеводородной среде. Липидные композиты получали в мицеллярной форме и форме микроэмульсий. Спектральными и физико-химическими методами была подтверждена химическая инертность и надежное капсулирование металлического ядра наноферромагнетика в биологических условиях за счет сплошности внешней оболочки, структура которой соответствует алмазоподобному и графеновому состояниям углерода. Было показано, что в области концентраций 2-3 мг/кг наночастицы Fe(C) не разрушают гемопозитические островки в эксперименте *in vitro*. Один цисплатин оказывает *in vitro* примерно одинаковое цитотоксическое действие на здоровые и опухолевые клетки. Лучшие противоопухолевые свойства *in vivo* при местном введении показала та же система, состоящая из мицеллярной формы цитостатика с наночастицами Fe(C) – снижались размеры и масса опухолевого узла; уменьшалась площадь опухоли на гистологических срезах; опухолевый узел на 60 % замещался соединительной тканью, что не отмечалось в других группах.



## МЕЖДУНАРОДНЫЙ ПРОЕКТ “ПРОТЕОМ ЧЕЛОВЕКА”: НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ

**Арчаков А.И.**

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии  
им. В.Н. Ореховича РАМН, Москва, Россия  
alexander.archakov@ibmc.msk.ru

Цель участия России в Проекте «Протеом человека» заключается в идентификации всех белков, кодируемых 18-й хромосомой. Эта хромосома содержит относительно небольшое количество генов (462), и довольно высокое процентное содержание медицински-значимых однонуклеотидных полиморфизмов в расчете на 1 ген (0,95 SNP / ген).

План российской части международной части проекта состоит из нескольких этапов. На первом из них производится автоматическая обработка опубликованных данных и информационных ресурсов с целью сбора информации о генах 18-й хромосомы и продуктах их экспрессии. Также проводится компьютерный анализ известных аллельных генов и генетических сплайс-вариантов, которые могут приводить к появлению полиморфных форм белков. Полученная информация интегрируется в геноцентрическую базу знаний. На следующем этапе изготавливают транскриптомные ДНК-микроматрицы, специфичные для генов 18-й хромосомы, и на этих микроматрицах проводятся эксперименты по определению экспрессируемых молекул кодирующей белки ДНК. На третьем этапе с использованием масс-спектрометрии идентифицируются белки 18-й хромосомы, находящиеся в диапазоне концентраций свыше  $10^{-12}$  М в плазме крови и в клетках печени человека линии HepG2. По результатам идентификации определяются протеотипические пептиды, для которых синтезируются изотопно-меченные аналоги для количественного мониторинга множественных реакций (AUQA/MRM). Четвертый, наиболее сложный этап, заключается в разработке технологии для идентификации низкокопийных белков, концентрация которых ниже  $10^{-12}$  М. Здесь будет применяться итеративная процедура необратимого фишинга биомолекул на развитую поверхность микрочастиц. Процесс фишинга будет контролироваться атомно-силовым микроскопом, а идентификация молекул будет проводиться масс-спектрометрическим методом. По мере идентификации белков и пептидов будет заполняться информация в геноцентрической базе знаний по 18-й хромосоме.

## **НАНОАЛМАЗЫ ВЗРЫВНОГО СИНТЕЗА В ТЕХНОЛОГИЯХ БИОЛОГИЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ**

**Бондарь В.С.**, Пуртов К.В., Могильная О.А., Пузырь А.П.  
Институт биофизики СО РАН, Красноярск, Россия  
bondvs@mail.ru

Обсуждаются перспективы применения детонационных наноалмазов в создании новых материалов и технологий биологического назначения.

Получены модифицированные наноалмазы, обладающие высокой коллоидной устойчивостью в дисперсионных средах, и доказана возможность их применения как адсорбента биомолекул разных классов. Приведены примеры использования наноалмазов для эффективного выделения и очистки белков в объеме из рекомбинантных источников и природных объектов, дополнительной очистки белковых препаратов, производимых коммерческими фирмами. Показано, что различные белки могут адсорбироваться наночастицами посредством образования ковалентных и координационных связей, ионообменных и гидрофобных взаимодействий, многоточечного связывания с участием нескольких механизмов. Это позволяет применять наноалмазы как полифункциональный адсорбент для проведения разных типов хроматографии. Впервые на основе наноалмазов и полимерной матрицы получен сорбент для колоночной хроматографии белков. Установлено, что модифицированные наноалмазы адсорбируют линейные и не связывают кольцевые молекулы ДНК, что свидетельствует в пользу возможности их применения в создании новых технологий для молекулярной биологии и генной инженерии. Показано, что ферменты, адсорбированные на поверхности наноалмазов, могут сохранять свою каталитическую функцию. Приведены примеры создания индикаторных и диагностических тест-систем (включая многокомпонентные) на основе комплексов наночастицы - маркерный белок (белки). Установлено, что наноалмазы проявляют каталитическую активность в органических реакциях, благодаря чему они могут быть использованы как катализатор при разработке методов мониторинга.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Федерального агентства по науке и инновациям РФ (Государственный контракт № 02.513.11.3079), РФФИ (грант № 06-04-90234) и Президиума РАН (программа №27, проект №64).

## ХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ, КАТАЛИЗИРУЕМЫЕ АБЗИМАМИ, ПОДХОДЫ К ПОЛУЧЕНИЮ НАНОЛЕКАРСТВ

Габибов А.Г.<sup>1</sup>, Белогуров А.А.<sup>1</sup>, Смирнов И.В.<sup>1</sup>, Бэкон А.<sup>2</sup>, Генкин Д.Д.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Компания Липоксен (Lipoxen), Лондон

[gabibov@mx.ibch.ru](mailto:gabibov@mx.ibch.ru)

Последнее десятилетие XX столетия и начало XXI века ознаменовано значительными успехами в области биокатализа. Открытие каталитических РНК (рибозимов) и каталитических антител (абзимов) существенно расширило рамки энзимологии традиционной области, находящейся на стыке биохимии, биоорганической химии и молекулярной биологии. Значительный интерес исследователей к абзимологии особенно на первых этапах развития вызван пониманием широких перспектив данного направления по созданию биокатализаторов *de novo* с заданными свойствами. Используя свойства гипервариабильности молекул суперсемейства иммуноглобулинов, исследователям удалось осуществить десятки новых химических превращений, многие из которых не катализировались новыми ферментами. Естественными ограничениями области явились относительно скромные значения констант скоростей, катализируемых реакций.

Получение абзимов сегодня осуществляется с помощью получения антител на аналоги переходных состояний реакций, путем скрининга фаг-дисплейных библиотек рекомбинантных антител, получением антиидиотпических антител к ферментам и выделением аутоантител из сывороток пациентов при аутоиммунных патологиях и модельных животных с подобными патологиями. Нами описаны абзимы катализирующие разрыв фосфодиэфирной связи молекулы ДНК, сложноэфирной, амидной связи. Продемонстрировано специфическое расщепление аутоантигенов, получение пептидов. Показаны диагностические, прогностические и терапевтические возможности нового направления. Показано вовлечение абзимов в развитие патологических процессов, таких как Системная красная волчанка, склеродермия, HIV, ревматоидный артрит, гемофилия.

Показана возможность получения «каталитических вакцин», в частности способных защищать персонал от действия оружия массового поражения. Показана возможность инкапсулирования антигенов для индукции каталитического ответа в липосомные наноконтейнеры.

## **ВОЗМОЖНОСТИ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ В ИССЛЕДОВАНИИ СТРУКТУРЫ ДНК**

**Генерозов Э.В.**

НИИ физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

generozov@gmail.com

В последние годы рибонуклеиновые кислоты активно используются в качестве объекта исследования или молекулярного манипулирования не только в традиционных биотехнологических направлениях, но и привлекают особое внимание как удобный материал для создания наноразмерных устройств. Эти факты обуславливают особую актуальность и востребованность в современных и высокопроизводительных методах анализа структуры ДНК и РНК. Методы масс-спектрометрии уже давно стали одним из стандартов для исследования и идентификации белков. Тем не менее, в области исследования структуры ДНК это стало возможным относительно недавно, а именно с разработкой новых мягких методов ионизации в сочетании с времяпролетной масс-спектрометрией (MALDI-TOF масс-спектрометрия). Возможности современных MALDI-TOF масс-спектрометров позволяют осуществлять полный комплекс исследований структуры ДНК, включающий качественный анализ синтетических олигонуклеотидов, верификацию и поиск точечных нуклеотидных замен, анализ эпигенетических изменений (метилование ДНК).

Одно из принципиальных преимуществ масс-спектрометрических способов в исследовании ДНК заключается в измерении естественных физических параметров биомолекул. При этом не требуется использование флуоресцентных меток, молекулярных зондов и любых других молекул-посредников, что существенно снижает себестоимость анализа и упрощает интерпретацию результатов. В то же время, точность современных MALDI-TOF масс-спектрометров обеспечивает уверенную регистрацию изменений молекулярной массы исследуемых олигонуклеотидов в пределах 2 Да. Другим преимуществом является высокая производительность и возможность автоматизации всех основных этапов анализа. При условии использования 384-луночных масс-спектрометрических чипов и автоматизированных алгоритмов обработки данных, масс-спектрометрические методы по своей производительности составляют достойную конкуренцию традиционным методам анализа нуклеиновых кислот.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ, НАНОМЕТРОВЫЕ МЕТОДЫ В ИЗУЧЕНИИ ОСНОВ ХРОМОСОМНОГО И КЛЕТОЧНОГО ФЕНОТИПОВ

**Глазко В.И.**

Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия  
vglazko@yahoo.com

Особое значение для исследования структурно-функциональной организации геномов имеет внедрение нанобиотехнологий в ДНК технологии. Нами были выполнены исследования полиморфизма полилокусных спектров ряда видов с использованием ПЦР и праймеров декануклеотидов, фрагментов микросателлитных локусов, терминальных участков ретротранспозонов. Обнаружено, что нуклеотидная длина ряда фрагментов ДНК отличается высоким эволюционным консерватизмом, что согласуется с представлениями А.Лима-де-Фария о «хромосомном фенотипе», неслучайном распределении семейств тандемных повторов по длине хромосом. Проблемы функциональной геномики решаются с использованием ДНК биочипов. Для оценки профилей генной экспрессии в печени и почках свиней с использованием ДНК микроматриц выполнены сравнения количества мРНК ряда структурных генов. В результате сравнения интенсивности гибридизации разных участков кДНК одних и тех же генов с пробами ДНК выделились две группы генов с минимальными и максимальными отличиями. С использованием данных ГенБанка и программы BLASTn обнаружено, что одна из причин наблюдаемых отличий обусловлена перекрестной гибридизацией и типична для генов супергенных семейств. Сравнительный анализ позволил выявить 40 генов, экспрессия которых была существенно выше в клетках почек, чем печени. Основные отличия в профилях генной экспрессии оказались связанными с генами, контролирующими меж- и внутриклеточный ионный обмен, а также механизмы клеточного деления. Это хорошо согласуется с доминирующим участием почек в поддержании ионного баланса в крови млекопитающих, а также со сниженной активностью цитокинеза в печени (полиплоидизацией гепатоцитов). Таким образом, выявленные отличия в профилях генной экспрессии клеток почек и печени соответствуют функциональным и гистологическим особенностям этих органов. Полученные данные наглядно демонстрируют возможности использования коротких фрагментов ДНК в исследованиях формирования хромосомного и клеточного фенотипов.

## **НАНОКОМПЛЕКСЫ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ С ТРАНСПОРТНЫМИ ПЕПТИДАМИ - ИНГИБИТОРЫ ИНТЕГРАЦИИ И РЕПЛИКАЦИИ ВИЧ-1**

Готтих М.Б.<sup>1</sup>, Королев С.П.<sup>2</sup>, Приказчикова Т.А.<sup>2</sup>, Агапкина Ю.Ю.<sup>2</sup>, Смолов М.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>2</sup>Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия  
gottikh@belozersky.msu.ru

Одной из основных стадий репликации вируса приобретенного иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ-1) является интеграция кДНК вируса в геном человека. Этот процесс осуществляется вирусным ферментом интегразой. Ранее мы показали, что короткие олигонуклеотиды, содержащие гидрофобный фрагмент на 5'- или 3'-конце, являются эффективными ингибиторами интегразы ВИЧ-1 *in vitro*. Ингибирование протекает по неконкурентному механизму, причем связывание модифицированных олигонуклеотидов с комплексом интегразы с вирусной ДНК приводит к разрушению последнего. Показано, что наиболее эффективно ингибируют интегразу конъюгаты олигонуклеотидов с эозином. С использованием аналога олигонуклеотидного ингибитора, содержащего химически активную альдегидную группу, показано, что ингибитор связывается с интегразой в районе лизина 236. Анализ компьютерной модели комплекса интегразы с вирусной ДНК позволил объяснить механизм действия олигонуклеотидного ингибитора. В результате сотрудничества с лабораторией Центра изучения биохимии макромолекул НЦНИ (Франция) был подобран пептидный носитель, формирующий с конъюгатом олигонуклеотида с эозином прочные наноконплексы. Исследовано проникновение этих комплексов в клетки человека и установлено, что эффективность проникновения и внутриклеточное распределение олигонуклеотидного ингибитора зависит от состава наноконплекса. Показано, что такие пептидо-олигонуклеотидные комплексы подавляют репродукцию ВИЧ-1 в культуре клеток, причем индекс селективности превышает 13000.



## **ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ ДИАТОМЕЙ: ПУТЬ К НОВЫМ БИОТЕХНОЛОГИЯМ И НАНОМАТЕРИАЛАМ**

**Грачев М.А.**

Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, Россия

grachev@lin.irk.ru

Диатомовые водоросли – одноклеточные эукариотические фотосинтезирующие микроорганизмы, играющие важную роль в биосфере, обеспечивая 20% всей первичной продукции органического вещества Земли. Клеточные стенки этих водорослей построены из силикагеля – биогенного кремнезема, твердого и прочного материала, испещренного узорами отверстий, шипами и другими структурами, имеющими размеры в диапазоне от 10 нанометров до нескольких микрометров. В последние годы в мировой науке молекулярной биологии диатомей уделяется все больше и больше внимания, поскольку открываются перспективы их практического использования в биотехнологии и конструировании новых наноматериалов.

Единственной точкой в России, где изучается молекулярная биология диатомей, является Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук. В докладе будет рассказано о некоторых итогах этих исследований за период с 2000 года.

## РАСЧЁТ КАРТИНЫ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ СКОРОСТЕЙ РЕАКЦИЙ В МИТОХОНДРИЯХ КЛЕТКИ ДРОЖЖЕЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМАХ РОСТА

Дроздов-Тихомиров Л.Н.<sup>1</sup>, Звягильская Р.А.<sup>2</sup>, Назипова Н.Н.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт биохимии РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>Институт математических проблем биологии РАН, Пущино, Россия

lyusiend@mail.ru

Разработан метод расчета реальной картины распределения скоростей реакций в данной самовоспроизводящейся автономной метаболической системе (клетке), по экспериментальным данным о величинах входных материальных потоков (субстраты роста), данным о мономерном составе биополимеров, образующих систему, и данным о величинах выходных потоков (СО<sub>2</sub> и выделяемые продукты биосинтеза). При разработке метода использован предложенный нами ранее подход к математическому моделированию процессов в больших метаболических системах, названный методом баланса стационарных метаболических потоков (метод БСМП), который был применён для решения оптимизационных задач в биотехнологии. С помощью метода БСМП можно рассчитывать какие максимальные значения могут иметь экономические коэффициенты биосинтеза для биопродуцентов с известной биохимической структурой. При этом рассчитывается также картина распределения скоростей реакций, но это распределение описывает реальное распределение, имеющееся у исследуемого биопродуцента, а то оптимальное, при котором экономический коэффициент имел бы максимальное значение, и которое может быть, в принципе, достигнуто, если скорости реакций в системе отрегулировать наилучшим образом для достижения максимальной эффективности рассматриваемого процесса биосинтеза.

Для реализации разработанного метода был создан пакет программ FLUX IV. Метод использован для изучения метаболизма митохондрий дрожжей. По данным, предоставленным лабораторией биоокисления Института биохимии РАН, получены картины реального распределения скоростей реакций в митохондриях дрожжей *Sacharomyces cerevisiae* при различных режимах роста.

## **НАНОРЕЛЬСЫ И НАНОЛОКОМОТИВЫ: ПРИНЦИПЫ ПЕРЕМЕЩЕНИЯ БЕЛКОВ ПО ДНК**

**Жарков Д.О.**

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск, Россия

[dzharkov@niboch.nsc.ru](mailto:dzharkov@niboch.nsc.ru)

Одна из основных проблем конструирования наносистем заключается в доставке нанообъектов в необходимую точку. В отсутствие дальнедействующих взаимодействий (напр., электромагнитных полей) такая адресная доставка в подавляющем большинстве случаев возможна только за счет броуновского движения нанообъектов. В то же время случайное блуждание в трехмерном пространстве является довольно неэффективной стратегией для поиска цели.

Один из возможных подходов к решению этой проблемы состоит в создании путей-«нанорельсов», ведущих к заданной точке, по которым может перемещаться нанообъект. В живых системах такая стратегия успешно используется как минимум в двух случаях. Во-первых, эукариотические клетки обладают цитоскелетом, одна из функций которого состоит в транспортировке отдельных внутриклеточных элементов за счет специальных моторных белков-«нанолокомотивов»,двигающихся по этим путям. Во-вторых, многие белки и белковые комплексы, принимающие участие в реализации генетической информации, перемещаются по ДНК или РНК в поисках специфических элементов узнавания (сайтов рестрикции, промоторов и т.п.). С точки зрения применимости в бионанотехнологии использование ДНК в качестве «нанорельсов» представляется наиболее предпочтительным в связи с легкостью синтеза широкого спектра необходимых для этого структурных элементов.

Белки,двигающиеся по ДНК, используют два основных механизма передвижения: направленное передвижение с затратой энергии гидролиза АТФ и ненаправленная одномерная диффузия без затрат энергии. Нами разработан новый подход к количественному анализу второго из этих механизмов. Показано, что ряд ферментов репарации ДНК (ДНК-гликозилазы, АП-эндонуклеазы) перемещаются по ДНК за счет одномерной диффузии, определена зависимость дальности такого перемещения от состава окружающей среды, получены мутантные формы белков с измененной способностью к движению по ДНК. Данные белки могут найти применение в бионанотехнологии для адресной доставки в наносистемах.

# САМОСОБИРАЮЩИЕСЯ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ДЛЯ ТРАНСФЕКЦИИ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

**Зенкова М.А.,** Черноловская Е.Л., Пышный Д.В., Власов В.В.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск, Россия  
marzen@niboch.nsc.ru

Препараты на основе нуклеиновых кислот (НК) являются перспективными агентами для подавления экспрессии терапевтически значимых генов. Однако низкая эффективность поглощения НК клетками-мишенями остается одним из основных препятствий, затрудняющих их использование *in vivo*. Проникновение НК через клеточную мембрану может быть усилено путем образования наноконплексов и их аккумуляции на поверхности клеток.

Формирование модифицированными олигонуклеотидами надмолекулярных структур повышает их способность связываться с несколькими типами раковых клеток. Исследования внутриклеточной локализации и биологической активности таких комплексов показали, что комплексы равномерно распределяются в цитоплазме клетки, не цитотоксичны, и эффективно подавляют экспрессию гена мишени. Аналогичные исследования, проведенные с использованием малых интерферирующих РНК (siРНК), содержащих липофильные остатки на 5'-конце пассажирской цепи, показали, что наличие остатка холестерина оказывает положительный эффект не только на проникновение модифицированной siРНК в клетки, но и усиливает интерферирующую активность такой siРНК.

Для повышения эффективности доставки НК в клетки предложено использовать ДНК кассеты, экспрессирующие шпилечные РНК (shРНК). Присоединение к 5'-концам такой кассеты молекул-транспортеров приводит к значительному повышению эффективности их транспорта через клеточную мембрану без использования каких-либо трансфецирующих соединений и позволяет достичь специфического подавления экспрессии гена мишени.

Результаты нашего исследования показывают, что формирование НК наноконплекса приводит к значительному повышению эффективности ее транспорта через клеточную мембрану без использования каких-либо вспомогательных трансфецирующих соединений и позволяет достичь специфического подавления экспрессии гена мишени.

Работа выполнена при поддержке грантами Программ президиума РАН ("МКБ", "ОФИНиН" и "ФНМ"), ФЦНТП Г/К № 02.513.11.2200, РФФИ 08-04-00753-а.

## НАНОБИОЧИПЫ НА ОСНОВЕ ГИДРОГЕЛЯ ДЛЯ АНАЛИЗА ГЕНОМА MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS: МЕТОДЫ И ПРИМЕНЕНИЕ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Зименков Д.В.<sup>1</sup>, Грядунов Д.А.<sup>1</sup>, Антонова О.В.<sup>1</sup>, Михайлович В.М.<sup>1</sup>, Барский В.Е.<sup>2</sup>, Заседателев А.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>ООО "Биочип-ИМБ"

z@biochip.ru, grad@biochip.ru

Биологические микрочипы, разрабатываемые в Институте молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, состоят из массива ячеек гидрогеля, закрепленных на гидрофобной пластиковой поверхности. Ячейки, имеющие объем от нескольких пиколитров до нескольких нанолитров, содержат иммобилизованные нуклеиновые кислоты, белки, другие соединения и живые клетки. Одной из основных прикладных задач, решаемых с помощью гелевых нанобиочипов, стала разработка методов идентификации мутаций, ответственных за лекарственную устойчивость *M. tuberculosis*. Разработан метод идентификации возбудителя туберкулеза и определения его чувствительности к рифампицину (RIF) и изониазиду (INH). Метод выявляет мутации в генах *rpoB*, *katG*, *inhA*, *ahpC*. Процедура анализа включает мультиплексную ПЦР с последующей гибридизацией на биочипе. С использованием метода было протестировано свыше 10000 клинических образцов. Чувствительность процедуры (т.е. способность определять настоящую устойчивость) составила 94% для RIF и 84% INH в сравнении с результатами бактериологических тестов. В настоящее время ТБ-Биочип успешно применяется в 20 противотуберкулезных учреждениях РФ. Для определения устойчивости возбудителя туберкулеза к фторхинолонам разработан биочип для идентификации 8 мутантных вариантов гена *gyrA*, встречающихся в устойчивых к фторхинолонам штаммах (около 85% всех резистентных форм). По данным результатов клинических испытаний, при исследовании мокроты на биочипах, определение значимых мутаций в гене *gyrA* может служить маркером наличия у пациента XDR-TB, сопровождающегося выделением штаммов с устойчивостью как минимум к рифампицину, изониазиду, фторхинолонам и аминогликозидам. Нанобиочипы на основе гидрогеля производятся в промышленных масштабах, что снижает их себестоимость и позволяет применять методики в клиничко-диагностических лабораториях, а также использовать их не только с целью первичной идентификации устойчивых штаммов *M. tuberculosis*, но и для коррекции антибактериальной терапии в ходе лечения.

## БИОСЕНСОРНЫЙ АНАЛИЗ В ПРОТЕОМИКЕ

**Иванов Ю.Д., Арчаков А.И.**

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии  
им. В.Н. Ореховича РАМН, Москва, Россия  
Yurii.Ivanov@rambler.ru

Нанобиосенсоры для протеомных исследований характеризуются беспрецедентной чувствительностью и производительностью. Важное место среди высокочувствительных нанобиосенсоров занимают атомно-силовые и нанопроводные молекулярные биосенсоры. Эти биосенсоры позволяют регистрировать отдельные макромолекулы без использования меток и реакций амплификации, что необходимо для выявления низкокопийных белков. В работе атомно-силовые биосенсоры были использованы для регистрации белков в концентрациях ниже  $10^{-12}$  М. Для этого использовалась технология АСМ-необратимого фишинга. На примере HVcore Ag была показана возможность такой технологии для регистрации белка с концентрацией  $10^{-16}$  М. Продемонстрированы примеры использования АСМ-нанобиосенсоров в новом разделе протеомики - single molecular enzymology - для мониторинга активности единичных молекул ферментов. Совместно с ИФП СО РАН был разработан нанопроводный детектор для высокочувствительной регистрации белков. Быстродействующие биосенсоры, изготавливаемые на основе оптических преобразователей "resonant mirror", были использованы для регистрации белок-белковых взаимодействий в цитохром Р50-содержащих монооксигеназных системах, а также были созданы диагностические наночипы для выявления маркеров гепатита В и С, позволяющие проводить медицинскую диагностику в реальном времени без использования меток. Среди быстродействующих нанобиосенсоров особое внимание в работе уделено оптико-акустическим нанобиосенсорам, преобразующим физико-химические свойства белков и межбелковых взаимодействий напрямую в сигнал, анализируемый с помощью персонального компьютера.



# ИССЛЕДОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ФЛОРЫ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ ПРОФИЛИРОВАНИЕМ ПОЛИПЕПТИДОВ

Ильина Е.Н.<sup>1</sup>, Боровская А.Д.<sup>1</sup>, Говорун В.М.<sup>1</sup>, Кострцева М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>НИИ физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

<sup>2</sup>Брукер Дальтоник, Бремен, Германия

ilinaen@gmail.com

Важное место в формировании базы аналитических методов изучения нанообъектов, к которым относятся единичные молекулы природных биополимеров – белков и нуклеиновых кислот, занимает масс-спектрометрия. Непосредственно с МАЛДИ масс-спектрометрией связано одно из направлений бактериальной протеомики - прямое масс-спектрометрическое профилирование. Относительная толерантность МАЛДИ к загрязнению солями и другими примесями позволяет проводить прямой масс-спектрометрический анализ содержимого микробной клетки (прямое профилирование), т.е. без фракционирования и очистки отдельных компонентов. Рецептура применяемых матриц и параметры снятия масс-спектров позволяют регистрировать преимущественно полипептиды, что наиболее ценно: белки хорошо представлены в клетке в количественном соотношении и, вместе с тем, характеризуются определенной изменчивостью.

В своем исследовании мы ставили целью изучить возможность регистрации уникальных масс-спектров для видовой идентификации и типирования разнообразных бактерий, в том числе традиционно относящихся к микроорганизмам с высокой пластичностью геномов. Объектами служили бактериологически и генетически охарактеризованные выборки альфа-гемолитических стрептококков, бактерий рода нейссерий, лактобактерий, *Helicobacter pylori*. Несмотря на разнородность анализируемых групп, продемонстрирована эффективность масс-спектрометрического профилирования полипептидов для видовой идентификации и штаммовой дискриминации этих видов бактерий. Показана перспективность настоящего подхода для изучения процессов деградации микробной клетки под действием антибактериального препарата. Особенности и, вместе с тем, преимуществами такого подхода являются: 1) высокая аналитическая чувствительность метода, 2) простая обработка биологического материала, 3) высокая скорость измерения, 4) возможность автоматизации и роботизации всех стадий исследования.

## **СИНТЕЗ НАНОМАТЕРИАЛОВ И НАНОКОМПОЗИТОВ ДЛЯ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ**

**Исмагилов З.Р.**

Институт катализа им Г.К. Борскова СО РАН, Новосибирск, Россия  
zri@catalysis.ru

Одним из наиболее актуальных направлений в микробиологии и медицине является создание лекарственных средств нового поколения на основе искусственных наноконструкций, содержащих наночастицы.

В докладе обобщены данные по синтезу неорганических наночастиц для биологии и медицины и изложены наши результаты по синтезу и исследованию двух классов наноматериалов: углеродных нановолокон и наноразмерных  $\text{TiO}_2$ .

Выделены два главных направления синтеза нанодисперсных  $\text{TiO}_2$  на основе золь-гель-метода из алкоксидов титана (IV) и из хлорида титана (IV). Показана возможность целенаправленного регулирования свойств наночастиц  $\text{TiO}_2$  в золях и их стабилизации. Физико-химическими методами охарактеризованы размеры частиц (2-5 нм), фазовый состав и другие свойства  $\text{TiO}_2$ .

Разработаны технология получения наноразмерного  $\text{TiO}_2$  с регулируемыми структурно-дисперсными свойствами и способы их стабилизации.

Углеродные нанотрубки (УНТ) и нановолокна (УНВ) представляют собой материалы с упорядоченной графитоподобной структурой и характерными размерами диаметра 5-100 нм.

Появились новые возможности использования углеродных наноматериалов в биомедицине. Во-первых, это создание биосенсоров, основанных на ферментных электродах, закрепленных на углеродных нанотрубках, для анализа биологических сред (глюкозы, холестерина, мочевины, аминокислот и др.). Во-вторых, использование углеродных нанотрубок для внутриклеточной терапии, т.е. доставки нужного реагента в клетку для лечения рака, СПИДА и т.д. В-третьих, применение УНТ и УНВ непосредственно для уничтожения бактерий, микробов и даже раковых клеток. Введением азота в УНВ созданы новые наноконпозиты для этих целей.

Работа поддержана интеграционными проектами СО РАН №9, №61, №73, №88, и Президиума РАН №27.41, № 27.58

## **РИБСОМА – БИОНАНОМАШИНА, СИНТЕЗИРУЮЩАЯ БЕЛКИ**

**Карпова Г.Г.,** Грайфер Д.М., Малыгин А.А.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск, Россия

karпова@niboch.nsc.ru

Во всех живых организмах белки синтезируются специальными клеточными органеллами – рибосомами по программе, поступающей в виде матричных РНК (мРНК), чьи нуклеотидные последовательности скопированы с геномной ДНК. В основе функционирования рибосом лежат принципы самосборки, самоорганизации, молекулярного распознавания и саморегуляции, характерные для сложных супрамолекулярных структур. Будут рассмотрены химико-биологические аспекты процесса трансляции на рибосомах. Основное внимание будет уделено молекулярным механизмам процессов, обеспечивающих высокоорганизованную работу этой многокомпонентной бионаномашины, в частности, будут рассмотрены вопросы, касающиеся возможного использования рибосом для решения задач бионанотехнологии, связанных с получением новых белков и пептидов.

## ОРГАНИЗАЦИЯ И ДИНАМИКА НАНОСТРУКТУР ЖИВОЙ КЛЕТКИ

**Киселева Е.В.**

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

elka@bionet.nsc.ru

Молекулярные наноструктуры – основные элементы бионанотехнологий присутствуют в живых клетках в большом количестве. К ним относятся молекулы ДНК и белки, способные самопроизвольно собираться в сложные биополимерные комплексы, а также другие внутриклеточные структуры размером менее 100 нм. В настоящей работе исследовали организацию и динамику ядерных поровых комплексов, филаментов внутриядерного матрикса и мембранных нанотрубок, формируемых эндоплазматическим ретикуломом (ЭПР). Разработав оригинальные методы выделения внутриклеточных компартментов из разных объектов и используя высокоразрешающую сканирующую электронную микроскопию, мы получили новые данные о свойствах и функциях перечисленных наноконструкций. Впервые установлено, что ядерные поры в растущем и интерфазном ядре формируются в ядерной оболочке обогащенной пузырьками ЭПР, сливающимися с ее наружной мембраной. Выявлен новый механизм формирования внутренней мембраны ядерной оболочки. Впервые изучены последовательные этапы сборки наноконструкций ядерных пор и изменение их конформации в процессе экспорта мРНК. Впервые получены 3-х мерные снимки двух типов филаментов внутриядерного матрикса, отличающихся по составу, функции и расположению внутри ядра. Установлено, что филаменты первого типа содержат актин, контактируют со сферическими тельцами, ядерными порами и частично с хроматином. Показано, что при сплавлении пузырьков ЭПР формируются узкие 20 нм трубки, в сборке которых принимает участие белок NogoA (ретикулон 4), стабилизирующий и обеспечивающий изгиб мембран в этих участках. Этот белок имеет отношение к развитию болезни Альцгеймера, а также, согласно нашим исследованиям, влияет на сборку ядерной оболочки растущих неделящихся ядер.

Работа выполнялась при поддержке РФФИ, Английского фонда Wellcome Trust и программы МКБ.

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КИНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В БЕЛКАХ И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТАХ

Коваль В.В.<sup>1,2</sup>, Федорова О.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

koval@niboch.nsc.ru

Такие нанообъекты, как белки и нуклеиновые кислоты, обладают способностью к высокоизбирательному взаимодействию с низкомолекулярными лигандами или другими биополимерами с образованием специфических комплексов с константами устойчивости, намного превышающими таковые для других соединений близкой структуры. Эта способность, часто фигурирующая под термином «узнавание», лежит в основе подавляющего большинства функций этих двух групп биополимеров. Образование специфических комплексов сопровождается конформационными превращениями в молекулах биополимеров. Поскольку конформационные переходы в белках и нуклеиновых кислотах происходят в диапазоне времени 1 – 1000 мсек, то удобным методом исследования является метод «остановленной струи» (stopped-flow) в сочетании с подходящим способом регистрации.

Хорошо известно, что триптофан (Trp) является наиболее интенсивно флуоресцирующей аминокислотой, и примерно 90 % всей флуоресценции белков обычно обусловлено его присутствием. Максимумы испускания флуоресценции белков зависят от локального окружения остатков Trp в молекуле полипептида. Это свойство остатков Trp позволяет использовать его как высокочувствительный флуоресцентный маркер конформационных изменений в молекулах белков. Флуориметрическую детекцию можно использовать и для исследования нуклеиновых кислот, если заменить природные гетероциклические основания на флуоресцирующие аналоги, например, 2-аминопурин или пирролоцитозин, или ввести химическим путем какие-либо флуоресцирующие группы.

Прямое наблюдение конформационных переходов в различных ферментах и нуклеиновых кислотах, в их комплексах с субстратами или в ковалентных интермедиатах в ходе каталитического процесса и позволяет глубже понять природу специфичности ферментов и механизм сопряжения конформационных переходов с превращением субстрата в продукт, получать кинетические и термодинамические характеристики взаимодействия биополимеров со специфическими лигандами и субстратами.

## **НАНОБИОТЕХНОЛОГИЯ: ИЗВЛЕЧЕНИЕ ЗНАНИЙ МЕТОДАМИ TEXT-MINING**

**Колчанов Н.А.**, Иванисенко В.А., Деменков П.С., Подколотный Н.Л.  
Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия  
salix@bionet.nsc.ru

Нанобиотехнология бурно развивающаяся область знаний. Приложения нанобиотехнологии в биомедицине охватывают системы доставки лекарств, маркеры, диагностику, лечение, микрофлюидные системы, биосенсоры и др. Быстрый рост научных публикаций в области нанобиотехнологии делает актуальной задачу разработки автоматизированных средств извлечения знаний из научных текстов. Информация о нанотехнологиях извлекалась из текстов специально разработанными методами text-mining. Также использовались разработанные ранее нами словари названий белков, генов, microRNA, метаболитов, биологических процессов, заболеваний, клеток и организмов. Интеграция информации осуществлялась с помощью построения сетей семантических ассоциаций, связывающих между собой извлеченные из литературы факты о молекулярно-генетической регуляции, физических взаимодействиях и ассоциациях между нанообъектами, молекулярно-генетическими объектами, биологическими процессами и заболеваниями. На основе автоматического анализа рефератов PubMed созданы базы данных по наноматериалам, конечной нанопродукции и нанобиотехнологиям. Базы интегрированы в единую систему, содержащую информацию о существующих нанобиотехнологических разработках, а также данные о молекулярно-генетических системах, вовлеченных в функционирование бионаноконструкций, проявление их фармакологических свойств в живых организмах. Разработанная система является пионерской работой в области автоматического извлечения знаний по нанобиотехнологии из текстов и их интеграции.

Работа частично поддержана Государственным контрактом № 01.647.11.2013 и интеграционным проектом СО РАН № 111

## НАНОМАШИНЫ РЕПАРАЦИИ ДНК

**Лаврик О.И.**

Институт Химической биологии и Фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск, Россия  
lavrik@niboch.nsc.ru

Доклад посвящен организации белковых наномашин, обеспечивающих эффективную репарацию ДНК и, тем самым, устойчивость клеток к воздействию окислительного стресса, химиотерапевтическим воздействиям и ионизирующему облучению. Механизмы репарации оснований, а также репарации одиночных и двойных разрывов в ДНК обеспечивают специфические ансамбли белков, которые организуют временные комплексы в процессе исправления поврежденного участка ДНК. Поврежденная структура ДНК переходит в режиме работы динамического конвейера от одного белкового комплекса к другому до завершения процесса репарации поврежденного основания или разрыва в ДНК. В процессе организации промежуточных белковых комплексов важная роль принадлежит кофакторам репарации, которые играют роль координаторов последовательных стадий процесса репарации ДНК, либо платформ для создания организованных белковых структур, осуществляющих отдельные этапы репарации. К таким белкам-кофакторам процесса репарации оснований относятся поли(ADP-рибозо)полимераза-1 (PARP1) и XRCC1. Будет рассмотрена роль этих белков в координации функций ДНК-полимеразы бета, апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазы-1, флэп-эндонуклеазы-1, а также в переключении различных путей репарации оснований. Будет рассмотрена функция Ku-антигена как платформы для организации машины репарации двойных разрывов в ДНК, возникающих при воздействии ионизирующего облучения, а также новые способы оценки уровня и модуляции активности ансамблей репарации ДНК в нормальных и патологических клетках.

Работа поддержана грантами РФФИ № 08-04-00704, 07-04-00389, Программой РАН "Молекулярная и клеточная биология", интеграционным проектом СО РАН № 104, Госконтрактом Роснауки № 02.512.11.2247.

## **ОПЫТ РАБОТЫ ЦКП «НАНОСТРУКТУРЫ» ПО РАЗВИТИЮ ФИЗИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЙ БИОНАНОСТРУКТУР**

**Латышев А.В.**

Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН, Новосибирск,  
Россия

latyshev@thermo.isp.nsc.ru

Дальнейшее развитие методов диагностики (в частности, встроенной в нанотехнологию), учитывающих специфику нанообъектов и их характерные размеры, является неотъемлемой частью развития высоких технологий получения и анализа свойств наноструктур нового поколения. Методическая сложность диагностики нанообъектов и высокая стоимость аналитического оборудования привела к необходимости создания центров коллективного пользования таким оборудованием. Одним из таких центров является ЦКП «Наноструктуры», которое объединяет лабораторию нанодиагностики и литографии Института физики полупроводников и лаборатории структурного анализа институтов Катализа и Неорганической химии СО РАН.

Важным направлением деятельности ЦКП является исследование методами высокоразрешающей просвечивающей и сканирующей электронной микроскопии атомной структуры, морфологии и химического состава широкого класса материалов, включая полупроводниковое материаловедение, катализ, минералогию и биологию. Успешно ведутся работы по оперативному бесконтактному контролю поверхностей кристаллов, диэлектриков, полимеров, биологических материалов, катализаторов, методами атомно-силовой микроскопии. В отличие от традиционного метрологического и диагностического обеспечения, ЦКП «Наноструктуры» осуществляет также технологическое обеспечение, а именно проводит структурирование, в том числе и в нанометровом диапазоне, полупроводниковых, металлических, углеродных, биоорганических материалов и создание структур пониженной размерности методами электронной литографии и сканирующей зондовой микроскопии.

Приборный парк ЦКП представлен уникальным оборудованием для электронной микроскопии, атомной силовой микроскопии, электронной спектроскопии и вторичной ионной масс-спектрометрии, электронной



наноитографии. ЦКП проводит работу по совершенствованию метрологического обеспечения нанотехнологий, в частности, метрологии линейных измерений в нанометровом диапазоне, в разработке мер малой длины для обеспечения единства прецизионных измерений размеров нанообъектов.

Центр оказывает услуги по созданию структур пониженной размерности (с геометрическими размерами до 10 нм) для нано, оптоэлектроники, спинтроники, наномеханики и биотехнологий методами современной высокоразрешающей электронной и зондовой наноитографии. Для решения современных задач диагностики наноструктур требуется адаптация к этим задачам традиционных методов, а также развитие новых, прежде всего локальных (до масштабов 0,1 нм) методов исследования и анализа свойств и процессов, характерным объектам нанометровой геометрии и системам пониженной размерности.

Приводятся примеры практического применения современных физических методов исследования для комплексного анализа систем пониженной размерности и бионаноструктур.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОРАЗМЕРНЫХ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ ОЛИГО И ПОЛИСАХАРИДОВ ДЛЯ МОДИФИКАЦИИ СВОЙСТВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И ВИТАМИНОВ**

Лёшина Т.В.<sup>1</sup>, Поляков Н.Э.<sup>1</sup>, Круппа А.И.<sup>1</sup>, Тарабан М.Б.<sup>1</sup>, Петрова С.С.<sup>1</sup>, Салахутдинов Н.Ф.<sup>2</sup>, Толстикова Т.Г.<sup>2</sup>, Толстиков Г.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт химической кинетики и горения СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН  
leshina@kinetics.nsc.ru

В ИХКГ СО РАН разработан подход, позволяющий с помощью набора физических методов фиксировать образование супрамолекулярных наноразмерных комплексов и мицелл с биологически важными молекулами (лекарственные препараты, витамины). Подход, сочетающий в себе методики ЯМР, включая ХПЯ, динамический ЯМР и УФ спектроскопию, позволяет также исследовать воздействие супрамолекулярного окружения на свойства «включенных» соединений. В частности, продемонстрировано, что включение каротиноидов в комплексы с глицирризиновой кислотой и природным полисахаридом арабиногалактаном оказывает заметное влияние на их физические (водорастворимость) и химические (окислительно-восстановительные потенциалы, устойчивость к облучению и окислению) свойства. При этом востребованность каротиноидов, как антиоксидантов в медицинской практике весьма велика, и также они используются в пищевой и косметологической промышленности, а основные ограничения их применения связаны как раз с низкой растворимостью и стабильностью. Поэтому можно ожидать, что результаты представленных исследований могут принести реальную пользу. Кроме того получены комплексы двух гипотензивных препаратов (нифедипин и лапаконитин) с глицирризиновой кислотой, и для них обнаружено существенное уменьшение лечебных доз, требующихся для купирования аритмии у мышей по сравнению с таковыми для индивидуальных соединений. Так для нифедипина уменьшение необходимой лечебной дозы составляет 300 раз. В работе исследуются также комплексы статинов и обсуждаются возможные источники воздействия супрамолекулярного окружения на активность лечебных препаратов.

## ПУТЬ К ОБРАТНОМУ ЧИСЛУ АВОГАДРО В ПРОТЕОМИКЕ

Лисица А.В., Арчаков А.И., Иванов Ю.Д., Згода В.Г.

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии  
им. В.Н. Ореховича РАМН, Москва, Россия  
fox@ibmh.msk.su

В 2001 году был расшифрован полный геном человека, что привело к возникновению целого ряда научных направлений нового характера, включая протеомику. Расшифровка генома человека была основана на единственном технологическом принципе — саморазмножение молекул ДНК в ходе полимеразной цепной реакции (ПЦР).

В настоящее время в протеомике отсутствует аналог ПЦР для белковых молекул. Поэтому для создания исчерпывающего атласа всех белков организма понадобится изменение технологической парадигмы. Это возможно за счет идентификации единичных молекул, что приведет к переходу на качественно другой уровень применения молекулярной биологии и обеспечит научно-обоснованный плацдарм для создания медицинской продукции с использованием достижений nanoиндустрии. Уже сегодня существуют прототипы молекулярных детекторов: мультикантилеверные зондовые микроскопы и наноразмерные КНИ-структуры. С помощью таких приборов экспериментаторам впервые предоставится возможность анализировать не средние показатели сотен миллионов молекул, а их единичные экземпляры — работать на уровне концентраций, равных обратному числу Авогадро, то есть  $\sim 10^{-24}$  М.

## **ИЗУЧЕНИЕ БИОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ НАНОАЛМАЗНЫХ КОМПОЗИТОВ ПО СНИЖЕНИЮ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ СОЛИ КАДМИЯ ПРИ ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОМ ВВЕДЕНИИ**

**Ломтева Н.А.**, Кондратенко Е.И., Касимова С.К., Липсон Н.Ю.  
Астраханский государственный университет, Астрахань, Россия  
nlomtjeva@mail.ru

В исследовании были использованы нанокomпозиционные материалы из наноалмаза (NDC – Nano Diamond Composition), которые имеют структуру, включающую нанofрагменты двух типов: частицы наноалмаза (средний размер 4-6 нм) и графитоподобную матрицу наноразмера, соединяющую их в трех измерениях. Материалы NDS – это сложные высокопористые углеродные соединения, объем поры которых составляет от 30 до 60 % от общего объема, размер  $7\pm 2$  нм.

Целью исследования было изучить биосовместимость и биопротекторные свойства наноалмазных композитов по снижению токсичного действия соли кадмия. Экспериментальным животным вводили внутривентриально раствор соли кадмия в течение 9 дней, активированный уголь и нанопористый материал, измельченные в порошокобразную массу в виде водной дисперсии также вводили внутривентриально с помощью зонда. Животные были разделены на группы: 1) интактные самки; 2) животные, получающие внутривентриально активированный уголь; 3) животные, получающие внутривентриально нанопористый материал; 4) животные, получающие внутривентриально соль кадмия; 5) животные, получающие внутривентриально соль кадмия с предварительным введением взвеси активированного угля; 6) животные, получающие внутривентриально соль кадмия с предварительным введением взвеси нанопористого материала.

Исследовалось перекисное окисление липидов в гомогенатах тканей печени. Изучали исходное содержание малонового диальдегида, скорость спонтанного и аскорбатзависимого перекисного окисления липидов. Введение соли кадмия приводило к значительному возрастанию процессов свободнорадикального окисления в ткани печени. Нанопористый материал, вводимый животным, как и активированный уголь не отличались от аналогичных показателей у контрольных самок по изучаемым параметрам. Внутривентриальное введение животным соли кадмия одновременно с активированным углем и нанопористым материалом приводило к снижению токсического действия соли кадмия, причем более выраженным сорбционным действием обладал нанопористый материал.

## **НОВЫЕ НАНОГИБРИДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ**

**Мажуга А.Г.**, Белоглазкина Е.К., Зык Н.В.  
МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия  
majouga@org.chem.msu.ru

В последние десятилетия были развиты теоретические и экспериментальные представления об адсорбции серосодержащих соединений на золотой поверхности и получении на их основе самоорганизующихся монослоев (СОМ). Большой интерес вызывают СОМ, получающиеся в результате адсорбции органических молекул, содержащих одновременно серосодержащий фрагмент и способную к связыванию биомолекул группировку. Одним из направлений в современной нанотехнологии является исследование физико-химических свойств наночастиц металлов (золото, железо, палладий и т.д.). Среди этих объектов наибольшее внимание уделяется изучению структуры и свойств нанокластеров золота, что связано с их эффективным применением в различных областях науки и техники в качестве биохимических сенсоров, лекарственных препаратов и катализаторов. Свойства кластеров этого благородного металла в первую очередь определяются способом синтеза, природой стабилизирующего лиганда, размером и формой наночастицы, ее зарядовым состоянием. В этой связи разработка синтетических подходов получения наночастиц золота с заданными свойствами представляется актуальным и своевременным.

Работа состояла из следующих этапов: синтез органических лигандов (тиолы, дисульфиды с терминальными функциональными группировками), модификация поверхности золота (наночастицы, пластины, электрод) полученными органическими лигандами, исследование физико-химических свойств, квантово-химическое моделирование взаимодействия наночастица-лиганд.

В работе будут рассмотрены примеры конструирования и использования, полученных наноматериалов в качестве биосенсоров.

## **ПОЛУПРОВОДНИКОВЫЙ ЛАЗЕРНЫЙ ДОПЛЕРОВСКИЙ СПЕКТРОМЕТР-АНЕМОМЕТР ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ НАНОЧАСТИЦ В РАСТВОРАХ**

**Меледин В.Г.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Институт теплофизики им. С.С.Кутателадзе СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>ОАО "Институт оптико-электронных информационных технологий", Новосибирск, Россия  
meledin@itp.nsc.ru

Полупроводниковый лазерный доплеровский спектрометр-анемометр для диагностики наночастиц в растворах ЛАД-079 разработан при поддержке программы импортозамещения СО РАН в 2008 году. Физико-химические и биологические оптические исследования распределений наночастиц и объектов наноразмерного диапазона в жидкостях, коэффициентов диффузии, дзета-потенциала и молекулярного веса полимеров выполняются в условиях прецизионного программируемого термостата.

Работа полупроводникового лазерного доплеровского спектрометра-анемометра для диагностики наночастиц в растворах основана на параллельном многоугловом спектральном анализе статически и динамически рассеянного лазерного излучения (аналог метода многоканальной фотон-корреляционной спектроскопии). Анализ характерного времени флуктуаций интенсивности рассеянного света позволяет определить коэффициент диффузии дисперсных частиц в жидкости и размер дисперсных наночастиц в жидкостях и молекулярный вес полимерных молекул. Распределение наночастиц по размерам рассчитывается на основе анализа коэффициента диффузии в рамках модели Стокса-Эйнштейна. Диапазон измеряемых размеров находится в пределах от нанометра до десяти микрон.

Выполнено тестирование прибора на тест объектах органического и неорганического происхождения. В докладе приводятся экспериментальные результаты аппаратных калибровок и выполненных экспериментов по анализу распределений наночастиц в биожидкостях, в том числе, в моче. Показывается перспективность предложенного метода и технологии нанодиагностики для целей практической медицины.

Показано, что основные параметры созданного полупроводникового лазерного доплеровского спектрометра-анемометра для диагностики наночастиц в растворах ЛАД-079 соответствуют лучшим мировым аналогам (Photocor Complex, Malvern ZetaSizer Nano) при меньшей стоимости и лучших функциональных возможностях и удовлетворяет современным требованиям к метрологическому обеспечению фундаментальных и прикладных исследований.

## **ВЛИЯНИЕ ЛИПОСОМАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА НАНОРАЗМЕРНЫХ ЧАСТИЦ МАГНЕТИТА НА СТРУКТУРУ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРЫС**

**Мильто И.В.**, Суходоло И.В.

Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию, Томск, Россия  
milto\_bio@mail.ru

В работе изучается влияние липосом, содержащих наноразмерные частицы магнетита (магнитолипосом-МЛ), при внутривенном введении на структуру печени, почек и легкого крыс. Магнитолипосома – перспективный магнитоуправляемый носитель для адресной доставки регуляторных и терапевтических агентов в регион патологического процесса с использованием постоянного магнитного поля. МЛ получали методом экструзии из фосфатидилхолина и стандартизированного водного раствора наноразмерных частиц  $Fe_3O_4$ . Размер полученных частиц эмульсии не превышал 400 нм. Содержание наноразмерных частиц – 5 мг/мл. Структура МЛ установлена методом электронной микроскопии. Исследование проводилось на 36 беспородных белых крысах-самцах: 1-я группа – интактные животные; 2-я группа – животные с внутривенным введением 2-х мл препарата полых липосом (135 мг(ФХ)/кг массы тела); 3-я группа – в хвостовую вену в том же объёме введен стандартизированный раствор наноразмерных частиц  $Fe_3O_4$  (г ( $Fe_3O_4$ )/кг массы тела) и 4-я группа – внутривенно вводили МЛ (0,07 г ( $Fe_3O_4$ )/кг массы тела) в объеме 2 мл. Выведение животных из эксперимента проводили методом декапитации под эфирным наркозом на 1 и 14 сутки после инъекции. На срезах органов проводилась гистохимическая реакция по методу Перлса, после чего они докрашивались гематоксилином и эозином. Внутривенное введение крысам наноразмерных частиц  $Fe_3O_4$  и МЛ вызывает сходные изменения в структуре печени, лёгкого и почках крыс в двух данных группах на 1 и 14 сутки, что свидетельствует о едином механизме этих изменений, обусловленном наноразмерными частицами  $Fe_3O_4$ . Внутривенное введение крысам МЛ сопровождается накоплением наноразмерных частиц магнетита в клетках СМФ печени, легких и почек, а также развитием морфологических изменений (гемодинамические расстройства, дистрофические и некротические изменения паренхиматозных клеток), выраженность которых в печени и почках нарастает к 14 суткам исследования.

## КРЕМНИЙ-НА-ИЗОЛЯТОРЕ НАНОПРОВОЛОЧНЫЕ ТРАНЗИСТОРЫ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ БИОСЕНСОРОВ

Наумова О.В.<sup>1</sup>, Фомин Б.И.<sup>1</sup>, Насимов Д.А.<sup>1</sup>, Дудченко Н.В.<sup>1</sup>, Жанаев Э.Д.<sup>1</sup>,  
Сафронов Л.Н.<sup>1</sup>, Попов В.П.<sup>1</sup>, Латышев А.В.<sup>1</sup>, Асеев А.Л.<sup>1</sup>, Иванов Ю.Д.<sup>2</sup>,  
Арчаков А.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН,  
Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт биомедицинской химии  
им. В.Н. Ореховича РАМН, Москва, Россия  
naumova@isp.nsc.ru

Исследованы перспективы применения наноструктурированных ультратонких (менее 50 нм) слоёв кремний-на-изоляторе (КНИ) в качестве сенсоров и, в частности, детекторов органических молекул в биожидкостях. Для демонстрации сенсорных характеристик были изготовлены КНИ нанопроволочные транзисторы (КНПТ) с открытым каналом с применением оптической и электронной литографий, а также экспериментальные чипы КНИ-нанопроволочных транзисторов со следующими параметрами:

- толщина нанопроволоки (толщина КНИ) 10-50 нм;
- ширина нанопроволоки 50-500 нм;
- число нанопроволок – не менее 12 на кристалл;
- диаметр чувствительной зоны – не менее 2 мм.

Тестовые КНИ нанопроволочные транзисторы изолированы друг от друга с помощью защитного TEOS диэлектрика, допускающего многократное экспонирование биосенсоров в различных растворах и биожидкостях и обеспечивающего воспроизводимость результатов измерений содержания белковых молекул бычьего сывороточного альбумина (Bovine Serum Albumin или BSA) в растворах в интервале концентраций  $10^{-15}$  –  $10^{-4}$  моля при неспецифическом захвате молекул на открытый кремниевый канал.

Подтвержденная измерениями чувствительность к молекулам BSA не хуже 1 фемтомоля (около 600 молекул в 1 куб. мм жидкости) позволяет рассчитывать на возможность регистрации в специфических реакциях иммобилизации одиночных вирусных частиц и раковых клеток с помощью данного биосенсора, что исключительно важно для ранней диагностики и лечения опасных заболеваний.



## **ОСОБЕННОСТИ АБЗИМОВ ИЗ КРОВИ И МОЛОКА ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ И ПАЦИЕНТОВ С АУТОИММУННЫМИ И ВИРУСНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ**

**Невинский Г.А., Бунева В.Н.**

Институт химической и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск,  
Россия

nevinky@niboch.nsc.ru

Обнаружение каталитической активности антител (АТ) является самым ранним признаком развития ряда аутоиммунных заболеваний (АИЗ). На ранних стадиях АИЗ репертуар абзимов относительно небольшой, но резко увеличивается при их развитии, но содержание каждого типа абзимов в крови больных АИЗ не превышает 0,01- 5% от общего количества АТ. Обнаружена каталитическая гетерогенность абзимов с ДНКазной, РНКазной, АТРазной, оксидоредуктазной активностями, а также АТ, фосфорилирующих белки, липиды и полисахариды. В данном сообщении рассматриваются новые данные о возможных причинах исключительной каталитической гетерогенности абзимов, а также возможная роль абзимов и их исключительного многообразия в патогенезе различных АИЗ.

Работа поддержана грантами Программ фундаментальных исследований Президиума РАН "Фундаментальные науки – медицине" (№ 12.2), "Молекулярная и клеточная биология" (№ 10.1), РФФИ (№№ 07-04-00387, 07-04-00395), РФФИ-БФФИ (№ 08-04-90014) и Интеграционным проектом СО РАН (№ 6).

## **ОНКОЛИТИЧЕСКИЕ НАНОПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ВИРУСОВ ДЛЯ ВЫСОКОСПЕЦИФИЧНОГО ЛИЗИСА РАКОВЫХ КЛЕТОК**

**Нетёсов С.В.<sup>1</sup>**, Кочнева Г.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГОУ ВПО "Новосибирский государственный университет", Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>ФГУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии "Вектор" Роспотребнадзора  
nauka@nsu.ru

Вирусы по своей сути изначально являются наноразмерными частицами, но лишь недавно с ними начали обращаться как с направленно конструируемыми нанотехнологическими объектами, модифицируя их свойства с помощью адресных изменений в геномах. Так, ранее большинство вакцин представляло собой либо препараты живых ослабленных вирусов, либо инактивированные вирусные препараты. 30 лет назад была разработана и внедрена в практику первая вакцина на основе рекомбинантного HBs-антигена вируса гепатита В. Другой идеей является разработка вирусоподобных иммуногенов, что может привести к прорыву в разработке вакцин против ВИЧ и гепатита С. Весьма перспективными являются и кандидатные препараты на основе живых вирусов и методов «обратной генетики» - это вакцины против ТОРС-коронавируса на основе парамиксовирусов, вирусов Эбола и Марбурга на основе апатогенных штаммов вируса везикулярного стоматита и другие препараты.

Недавно после выяснения молекулярных причин онкологических процессов появились возможности для избирательного лизиса опухолевых клеток специально сконструированными онколитическими вирусами. Эти препараты создаются на основе того, что модифицированные вирусы «узнают» специфические онкомаркеры в раковых клетках с последующим избирательным их инфицированием и лизисом. Уже сейчас такие препараты испытываются в клиниках США, Германии и Китая. В России идет первая фаза испытаний такого препарата на основе рекомбинантного аденовируса, разработанного в лабораториях авторов настоящего доклада.

Таким образом, модифицированные на уровне генома вирусы уже применяются в качестве внутриклеточных нано-машин и используются как вакцины, онколитические препараты и как генно-инженерные векторы для введения в организм человека генов, корректирующих неполадки в геноме. Дальнейшее развитие таких подходов поможет нам если не в полной победе над онкозаболеваниями и инфекциями, то по крайней мере в кардинальном расширении возможностей их лечения и контроля.

## ТЕРАГЕРЦОВОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ В БИОЛОГИИ

Пельтек С.Е.<sup>1</sup>, Попик В.М.<sup>2</sup>, Колчанов Н.А.<sup>1</sup>, Кулипанов Г.Н.<sup>2</sup>, Петров А.К.<sup>3</sup>, Горячковская Т.Н.<sup>1</sup>, Козлов А.С.<sup>3</sup>, Мордвинов В.А.<sup>1</sup>, Банникова С.В.<sup>1</sup>, Малуп Т.К.<sup>1</sup>, Демидов Е.А.<sup>1</sup>, Дужак Т.Г.<sup>1</sup>, Щеглов М.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Институт Ядерной Физики им. Г.И. Будкера СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>Институт Химической Кинетики и Горения СО РАН, Новосибирск, Россия

peltek@bionet.nsc.ru

Разработанная авторами методика мягкой абляции под действием терагерцового излучения (перевод молекул в аэрозольную фазу из твердой или жидкой без разрушения ковалентных связей) была признана достижением РАН за 2006 г. Проведена мягкая абляция фрагментов ДНК размером 3 000 пн, 9 000 пн и 23 000 пн. Абляция ДНК плазмиды pUC18 показала сохранение ее первичной структуры и способности трансформировать клетки *E.coli*. Показана возможность применения метода мягкой неразрушающей абляции для десорбции целевой ДНК с поверхности биочипа. Проведена абляция белковых молекул - лизоцима и пероксидазы хрена. Пероксидаза хрена, подвергнутая лазерной абляции, сохранила свою ферментативную активность. При помощи MALDI технологии был проведен сравнительный анализ спектров молекулярных масс исходного и аблированного препарата пероксидазы хрена. Для тестирования стрессового воздействия терагерцового излучения была использована серия стрессочувствительных геносенсоров, созданных в ИЦиГ СО РАН с использованием промоторов генов *dps*, *yfiA* и *katG*. Показано, что только промотор *katG* реагирует на терагерцовое излучение. Авторы считают перспективным развитие фундаментальных основ применения терагерцового излучения для: (1) Создания нового метода масс-спектрометрического анализа на основе перевода в газовую фазу биомакромолекул принципиально новым способом с использованием терагерцового излучения. Метод также может быть использован для точного измерения масс нанообъектов. (2) Изучение селективного влияния терагерцового излучения на генетические сети биообъектов. Изменение профиля экспрессии генов клеток может происходить путем дифференциальной активации терагерцовым излучением генных сетей или через активацию протонов в водных растворах. (3) Плавная перестройка длины волны излучения и ближнеполюсная техника позволяют изучать характеристические частоты как целых (интактных) биомакромолекул, так и их отдельных звеньев в составе биополимера.

## **ПРОЕКТ "СИБНАНОТЕХ" - ПАТЕНТНО-ЛИЦЕНЗИОННАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ В СФЕРЕ НАНОТЕХНОЛОГИЙ**

**Перепечко Л.Н.,** Шарина И.А., Шестаков Ю.В.

Институт теплофизики им. С.С. Кутателадзе СО РАН, Новосибирск, Россия  
io@itp.nsc.ru

До конца 2009 г. в России должна появиться национальная нанотехнологическая сеть (ННС). Обеспечение правовой охраны создаваемых нанотехнологий и продукции является одним из важнейших показателей реализации Программы развития nanoиндустрии в РФ. В связи с этим методическому, технологическому и организационному обеспечению работ, связанных с патентно-лицензионной деятельностью в организациях, образующих ННС, уделяется особое внимание. В 2008 г. Федеральным агентством по науке и образованию был проведен конкурс на выполнение работ «Методическое, технологическое и организационное обеспечение работ, связанных с патентно-лицензионной деятельностью в государственном научно-образовательном секторе и организациях, образующих ННС» в рамках ФЦП «Развитие инфраструктуры nanoиндустрии в Российской Федерации на 2008-2010 гг.». По Новосибирской области исполнителями являются ГПНТБ СО РАН, ИТ СО РАН и ООО «ИЭЦ» - Консорциум «Сибнанотех». В рамках проекта предусмотрено: 1. Проведение конференций и семинаров. 2. Предоставление свободного доступа к специализированным БД патентной и научно-технической информации. 3. Оказание консультационных услуг по патентно-лицензионным и юридическим вопросам охраны РИД в РФ и за рубежом. 4. Проведение патентно-информационного поиска и патентных исследований, патентование, лицензирование. 5. Разработка методических материалов. 6. Разработка проекта Положений о патентных подразделениях для отдельных организаций ННС региона или однопрофильных групп этих организаций. На основе систематизированной информации о работах в области нанотехнологий планируется формирование ННС, а также долгосрочное методическое, технологическое и организационное обеспечение работ, связанных с патентно-лицензионной деятельностью в организациях ННС, что позволит обеспечивать высокий технический уровень и конкурентоспособность разработок в сфере нанотехнологий и будет способствовать развитию nanoиндустрии и поддержанию научно-технического паритета РФ с ведущими странами мира.

# **ТЕХНОЛОГИЯ ТРЕХМЕРНЫХ ТОНКОПЛЕНОЧНЫХ НАНОСТРУКТУР И ПРИБОРОВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЙ В НАНОБИОТЕХНОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ**

**Принц В.Я.**

Институт физики полупроводников, Новосибирск, Россия

prinzh@isp.nsc.ru

Кратко изложены принципы формирования трехмерных наноструктур из напряженных полупроводниковых, металлических, диэлектрических пленок. Демонстрируются новые типы а) сенсоров, б) устройств для нанохирургии клеток, в том числе совмещенных с атомно силовым микроскопом, в) нанодвигателей, г) нанодозаторов.

## **БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ НАНОАЛМАЗОВ ДЕТОНАЦИОННОГО СИНТЕЗА В ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VIVO**

**Пузырь А.П.**, Бондарь В.С.  
Институт биофизики, Красноярск, Россия  
aruzyt@mail.ru

Наноалмазы детонационного синтеза были адаптированы для биологических целей и применены в исследованиях по замене воды в рационе питания, ингаляции, изучению реакции кожи, всем видам инъекций (включая внутривенные).

Результаты исследований *in vivo* на разных видах животных свидетельствуют о высокой биосовместимости наноалмазов:

- пероральное введение гидрозолей наночастиц мышам не отражается на росте и динамике веса отдельных органов, не влияет на репродуктивную функцию, но приводит к изменению биохимии и количеству лейкоцитов крови;
- при подкожных и внутримышечных инъекциях гидрозолей мышам и крысам не выявляется явных признаков воспалительного процесса, частицы локализованы в месте инъекций;
- длительный контакт с кожей не вызывает признаков контактного кожного дерматита у морских свинок, но при высоких концентрациях может наблюдаться поредение волосяного покрова;
- ингаляция сопровождается стимуляцией активного фагоцитоза поступающих частиц альвеолярными макрофагами и реактивной гиперплазией лимфоидной ткани легких мышей;
- при внутривенных инъекциях золей наноалмазов в глюкозе кроликам и собакам с использованием широкого диапазона концентраций наночастиц и вводимых доз по данным ЭКГ и УЗИ не отмечается несовместимых с жизнью изменений в характере сердечной деятельности и состоянии внутренних органов животных.

При всех видах введения наночастиц не наблюдается гибели животных, а регистрируемые эффекты в экспериментах *in vivo*, вероятно, определяются неспецифическим иммунным ответом организма на наночастицы.

Исследования выполнены при частичной финансовой поддержке Президиума РАН (программа №27, проект №64) и РФФИ (грант № 06-04-90234) совместно с сотрудниками и студентами КМНЦИЭСО при Президиуме КНЦ РАН и КГМУ.

## **НАПРАВЛЕННАЯ САМООРГАНИЗАЦИЯ СОСТАВНЫХ ОЛИГО- НУКЛЕОТИДНЫХ КОНСТРУКЦИЙ**

**Пышный Д.В.**

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск, Россия  
pyshnyi@niboch.nsc.ru

Проведен анализ представленных в литературе физико-химических характеристик, описывающих формирование различных структурных элементов комплексов ДНК.

Систематически исследованы особенности формирования составных дуплексных структур ДНК (тандемных, конкатамерных) с участием нативных и модифицированных олигонуклеотидов. С использованием различных методов проведено комплексное физико-химическое описание формирования составных олигонуклеотидных комплексов. Сформированы базы данных, включающие в себя термодинамические характеристики образования большого набора обычных и составных ДНК/ДНК комплексов. Детально охарактеризовано влияние одноцепочечного разрыва, внутридуплексных нуклеотидных вставок, ионной силы растворов на стабильность составных комплексов.

Представлены возможности направленного моделирования свойств составных олигонуклеотидных конструкций и перспективы их использования в ДНК-диагностике и наноархитектонике.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантами программ Президиума РАН “МКБ”, “ОФИНиН”, грантом поддержки научных школ, интеграционными грантами СО РАН, и частично ГК ФАНИ.

## МЕЗОПОРИСТЫЙ УГЛЕРОДНЫЙ КОМПОЗИЦИОННЫЙ СОРБЕНТ ДЛЯ ПРОТЕОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Пьянова Л.Г.<sup>1</sup>, **Веселовская А.В.**<sup>1</sup>, Бакланова О.Н.<sup>1</sup>, Чиркова О.А.<sup>1</sup>,  
Лихолобов В.А.<sup>1</sup>, Кудряшова Н.В.<sup>2</sup>, Годовикова Т.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем переработки углеводов СО РАН, Омск, Россия

<sup>2</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск, Россия  
medugli@ihcp2.oscsbras.ru

Для структурно-функциональных исследований ДНК-связывающих белков, которые секретируются раковыми клетками, либо клетками нормальных тканей в ответ на развитие онкологического заболевания, представляется перспективным применение подходов протеомики в сочетании с методом аффинной хроматографии.

Выбор подходящего лиганда и методы его присоединения играют огромную роль, поэтому перспективным является целенаправленный синтез образцов углеродного композиционного сорбента с заданными параметрами пористой структуры и химией поверхности, обеспечивающих выделение и разделение белков из биологических сред.

Для увеличения кислородсодержащих групп на поверхности исходных образцов углеродного сорбента было проведено модифицирование поверхности адипиновой кислотой с этиленгликолем по разработанной методике. Данные соединения при проведении поликонденсации образуют полимер, имеющий в своем составе группы, которые в дальнейшем могут быть активированы для ковалентного связывания лигандов.

Выбор параметров поликонденсации осуществлялся таким образом, чтобы обеспечить степень полимеризации, обеспечивающую хорошее закрепление модификатора на углеродной поверхности и достаточно высокий остаточный уровень функциональных групп, не вступивших в реакцию поликонденсации.

Установлено, что при нанесении адипиновой кислоты и этиленгликоля с последующей поликонденсацией на поверхность углеродного сорбента количество карбоксильных групп возрастает в 10-15 раз. Разработана методика активации кислородсодержащих групп на поверхности сорбента для ковалентного связывания лигандов (биополимер, нуклеотиды и т.д.). Проведена активация кислородсодержащих групп на модифицированной поверхности сорбента с последующим определением ковалентносвязанного белка. Установлено увеличение количества ковалентносвязанного белка альбумина для модифицированных образцов с активацией карбоксильных групп.

Работа выполнена при поддержке междисциплинарного интеграционного проекта № 88 СО РАН.



## **ОПТИЧЕСКАЯ ЭЛЛИПСОМЕТРИЯ: ПРИМЕНЕНИЕ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ**

**Рыхлицкий С.В.**, Кручинин В.Н., Швец В.А., Спесивцев Е.В.

Институт физики полупроводников СО РАН им. А. В. Ржанова, Новосибирск, Россия

rhl@isp.nsc.ru

В современной биохимии крайне актуальной задачей является совершенствование методов оценки малых концентраций органических соединений, макромолекулярных комплексов, различных клеточных элементов, в жидких средах и при адсорбции их на поверхности твердых тел (в том числе на поверхности клетки). Это важно как для научных исследований, так и для развития современных нанобиотехнологий. Для этого в настоящее время существует обширный арсенал методов анализа и эллипсометрия занимает в нем особое место, благодаря своим уникальным свойствам: это бесконтактный, прецизионный и высокопроизводительный метод, основанный на анализе состояния поляризации света, отраженного на границе раздела фаз. В нанобиологии и наномедицине эллипсометрия позволяет с высокой чувствительностью и точностью исследовать адсорбционные процессы биополимеров, проводить анализ взаимодействия макромолекул на поверхности биочипов, изучать переходные слои, структуру и состав биоорганических материалов. Кроме того оптическая эллипсометрия давно и успешно применяется для исследования иммунологических реакций, процессов свертывания крови, исследования клеточных структур и глазных сред.

На сегодняшний день в ИФП СО РАН разработано аппаратное обеспечение метода, отвечающего всем потребностям проводимых научных исследований. По функциональному назначению можно выделить следующие классы эллипсометров: спектральные эллипсометры (для диапазона длин волн от ближнего УФ- до ближнего ИК-излучения), *in-situ* и *ex-situ* эллипсометры высокого временного разрешения и сканирующие микроэллипсометры, предназначенные для графического отображения распределения физических параметров исследуемой поверхности в сканирующем режиме с высоким пространственным разрешением. Нами разработаны и запатентованы оригинальные конструкции современных автоматических эллипсометров всех вышеуказанных классов. В ряде случаев они обладают рекордными показателями по быстродействию, чувствительности и пространственному разрешению.

# ИЗУЧЕНИЕ ТЕРМОДИНАМИКИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АМФИФИЛЬНЫХ ДИМЕТИЛСИЛОКСАН-СОДЕРЖАЩИХ СОПОЛИМЕРОВ С ЛИПИДНЫМИ МЕМБРАНАМИ

**Семенюк П.И.**

Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия  
psemenyuk@belozersky.msu.ru

Известно, что амфифильные полимеры, в частности сополимеры этилен- и пропиленоксида (плюроники), способны понижать лекарственную устойчивость раковых клеток. Известно, что этот эффект связан с возмущением жидкокристаллической структуры фосфолипидного бислоя в результате встраивания в него полимера. Недавно было показано, что сополимеры, содержащие в качестве гидрофобного блока полидиметилсилоксан, также понижают резистентность раковых клеток к химиотерапии, повышая таким образом чувствительность к лекарственным препаратам.

Целью данной работы было изучение влияния сополимеров на основе силоксана на липидный бислой с точки зрения эффективности подавления лекарственной устойчивости и минимизации токсичного влияния сополимера на клетки.

С использованием изотермической титрующей калориметрии (ИТС) нами было показано, что чередующийся и блочный сополимеры диметилсилоксана и этиленоксида связываются с бислоем. Определены коэффициенты распределения полимеров между буферным раствором и липидной мембраной. При этом обнаружено, что коэффициент распределения блочного сополимера между водной и липидной фазами равен 33, что на 2-3 порядка меньше коэффициентов распределения классических детергентов. В то же время чередующийся сополимер характеризовался в 10 раз более высоким коэффициентом распределения. Методом дифференциальной сканирующей микрокалориметрии (DSC) изучены структурные перестройки в мембране, происходящие вследствие связывания сополимера. Обнаружено, в частности, что встраивание в мембрану блочного сополимера приводит к значительному понижению кооперативности плавления бислоя.

## **ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ХИМИЧЕСКИХ РЕАГЕНТОВ ПРИ ДИЗАЙНЕ САМООРГАНИЗУЮЩИХСЯ БИОНАНОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СТРУКТУР**

**Сильников В.Н.<sup>1</sup>**, Абрамова Т.В.<sup>1,2</sup>, Васильева С.В.<sup>1,2</sup>, Королева Л.С.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

<sup>2</sup> ООО "НаноТех-С" Новосибирск, Россия

<sup>3</sup> Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

silnik@niboch.nsc.ru

ДНК и РНК являются уникальным материалом, способным самоорганизовываться в наномолекулярные структуры как на основе только нуклеиновых кислот, так и с вовлечением других макромолекул. В литературе описаны разнообразные белково-нуклеиновые комплексы, комплексы РНК-ДНК, нуклеиновые кислоты, гибридизованные на твердые поверхности и др.

В ряде случаев, при создании функциональных наномолекулярных структур на основе нуклеиновых кислот, возникает необходимость в формировании ряда ковалентных связей как внутри наномолекулярной структуры, так и для "привязки" наномолекул к другим биополимерам или твердым поверхностям. При переходе от дизайна единичных наноконструкций к созданию технологии получения наномолекул с заданными свойствами, возникает потребность в "молекулярном конструкторе" – наборе мономеров для химического или ферментативного синтеза нуклеиновых кислот, несущих набор ортогональных прекурсорных групп, способных избирательно формировать ковалентные связи в процессе или после самоорганизации наномолекулярного ансамбля [1]. Данные группы должны обеспечивать эффективное образование ковалентных связей друг с другом в условиях максимально приближенных к физиологическим, быть совместимы с условиями химического или ферментативного синтеза нуклеиновых кислот и не взаимодействовать с другими функциональными группами, исходно имеющимися в биополимерах, вовлеченных в формирование наномолекулярных структур.

В настоящей работе предложены универсальные прекурсорные группы, позволяющие создать блоки молекулярного конструктора, пригодного для решения широкого спектра задач: введения в нуклеиновые кислоты низкомолекулярных лиганд, образование ковалентных связей в белково-нуклеиновых комплексах, присоединение нуклеиновых кислот к твердым поверхностям и др.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ 07-04-00990-а, PharmaMed RUXO-008-N0-06, программы СО РАН № 88.

1. Baskin M.J., Bertozzi C.R. // QSAR Comb. Sci. 2007. Vol. 26. P. 1211 – 1219.

## МНОГОЦЕЛЕВЫЕ НАНОБИОКОМПОЗИТЫ

**Сухов Б.Г., Трофимов Б.А.**

Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, Иркутск, Россия  
sukhov@irioch.irk.ru

Разработан общий подход к синтезу многофункциональных нанобиокомпозигов, основанный на эффекте самоорганизации неорганогорганических полимерных структур. Это приводит к инкапсулированию наночастиц различной природы (оксиды металлов, металлы, в том числе, закономерно легированные другими элементами) в объемный биополимерный экран (арабиногалактан, галактоманнан и их производные, гепарин, гуминовые кислоты, лигнин и др.).

Разработаны также методы иммобилизации на наноструктурированные биополимеры фармаконов, что значительно увеличивает их специфическую фармактивность при одновременном снижении токсичности, а также придает водорастворимость и повышенную биодоступность.

Получаемые наноматериалы на основе природных полимеров могут быть востребованы в качестве средств целевой нанодоставки фармаконов, биосовместимых магнитоконтрастных средств для томографии, магнитоуправляемых реологических затворов русла кровотока, высокоэффективных средств для магнитодинамической гипертермии опухолей, магнитолокализуемых и магнитоконтролируемых лекарственных средств, высокоэффективных флуоресцентных визуализирующих средств для диагностики, новых универсальных антимикробных средств, компонентов антимикробных атромбогенных покрытий имплантов, антимикробных атромбогенных замков для катетеров, суперабсорбентов с антисептическими свойствами, потенциальных противовоспалительных и противоопухолевых средств.

## ПОЛУЧЕНИЕ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА ВО ФТОРПОЛИМЕРНОЙ МАТРИЦЕ

Тимошенко Н.И.<sup>1</sup>, Ребров А.К.<sup>1</sup>, Сафонов А.И.<sup>1</sup>, Варнек В.А.<sup>2</sup>, Саранина И.В.<sup>3</sup>, Репин В.Е.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт теплофизики им. С.С.Кутателадзе СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Институт неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

vika@itp.nsc.ru

Актуальность развития методов получения и исследования наночастиц серебра в полимерной матрице обусловлена перспективой их использования в электронике, при производстве оптоволокон, а также в медицинской практике.

Настоящая работа посвящена описанию антибактериального действия полученных газодинамическим способом наночастиц серебра, стабилизированных фторполимерной матрицей.

Процесс нанесения покрытий на поверхность осуществляется в вакуумной камере при давлении около  $5 \cdot 10^{-2}$  торр. Поток предшественника полимера и пары металла осаждаются на поверхности мишени с одновременной полимеризацией и конденсацией паров металла. Параметры процесса: давление торможения, температура исходных газов и подложки и другие параметры в струе существенно влияют на структуру и свойства получаемых материалов на поверхности мишени.

Полученные образцы: серебро, нанесенное на бинт или на поверхность металла с размером частиц около 50 нм и такие же частицы серебра в матрице фторполимера, исследовались в качестве антимикробного средства на культуры патогенных бактерий: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*. Изучали процесс подавления роста, влияние концентрации бактерий, морфологию, ультраструктуру бактериальных клеток после обработки в жидкой среде в присутствии образцов по сравнению с контролем.

Отмечен бактерицидный и бактериостатический эффект, существенно превышающий полученный при использовании наносеребра без полимера. Обнаружена видовая и штаммовая зависимость эффекта серебросодержащих образцов. Результаты исследований нанокompозитов серебра и фторполимеров свидетельствуют о перспективности газодинамического метода получения металлополимерных материалов и возможном их использовании в практических приложениях.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 08 -08 -0344

## КОМПЬЮТЕРНЫЙ ДИЗАЙН ИСКУССТВЕННЫХ ДНК- И РНК-СТРУКТУР

**Титов И.И.**<sup>1,2</sup>, Пальянов А.Ю.<sup>1</sup>, Барсов К.<sup>2</sup>, Куликов А.И.<sup>2</sup>, Колчанов Н.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Новосибирский Государственный Университет, Новосибирск, Россия

titov@bionet.nsc.ru

Проектирование искусственных наноконструкций из ДНК и РНК является одной из важных задач бионанотехнологии. Специфичность комплементарных взаимодействий и быстрый прогресс в технологиях обращения с нуклеиновыми кислотами дает возможность создавать в пробирке сложные самособирающиеся ДНК-наноконструкции, которые не встречаются в живых организмах.

Для компьютерного дизайна ДНК и РНК с заданной пространственной структурой мы использовали генетический алгоритм, в котором максимизация целевой функции (стабильности структуры, сходства с целевой структурой и др.) осуществлялась моделированием эволюции последовательностей нуклеиновых кислот. На первом этапе вычисляли оптимальную вторичную структуру молекулы. Энергия вторичной структуры рассчитывали в рамках модели ближайших соседей. Затем для полученной оптимальной 2D структуры вычисляли пространственную конформацию оптимизацией взаимодействий элементов вторичной структуры между собой.

В работе представлены результаты компьютерного дизайна искусственных 2D и 3D структур: (i) стабильных и нестабильных вторичных структур, (ii) структуры, изоморфной кубу, (iii) квадратной решетки с минимальным размером ячейки и (iv) решетки, которая расширяется при растяжении (т.е. характеризуемой отрицательным коэффициентом Пуассона).

Работа поддержана Программой РАН 22 "Молекулярная и клеточная биология" (Проект 8 «Системная биология: компьютерно-экспериментальные подходы»)

## **СИНТЕЗ И ГИБРИДИЗАЦИЯ ДНК-СТРУКТУР, ПОЛУЧАЕМЫХ КОНЬЮГАЦИЕЙ АЛКИНИЛИРОВАННЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ С ОРГАНИЧЕСКИМИ ПОЛИАЗИДАМИ**

**Устинов А.В.**, Дубнякова В.В., Коршун В.А.

Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия  
austinov@mail.ibch.ru

В последние годы ДНК привлекает большое внимание исследователей в области бионанотехнологии как материал для создания наноструктур. Благодаря эффективности и предсказуемости процесса образования двухцепочечных структур из одноцепочечных фрагментов (гибридизации), ДНК стала одним из наиболее перспективных материалов современной нанотехнологии. Существующие вычислительные методы дизайна самособирающихся последовательностей позволяют получать из ДНК дискретные и периодические структуры, содержащие тысячи пар оснований и характеризующиеся предсказуемой и разнообразной наноархитектоникой.

Несмотря на впечатляющий прогресс в области конструирования наноструктур из немодифицированной ДНК, топологическая линейность двухцепочечной структуры ДНК-дуплекса является одной из основных проблем ДНК-нанотехнологии. Для увеличения разнообразия самособирающихся наноархитектур необходимо введение точек разветвления, а также функциональных молекулярных элементов в состав первичной структуры ДНК. Одним из путей синтеза разветвленных и модифицированных ДНК-конъюгатов является постсинтетическая модификация олигонуклеотидов.

Катализируемая соединениями меди (I) реакция [3+2]-диполярного циклоприсоединения терминальных алкинов к органическим азидам является одной из немногих, подходящих для синтеза разветвленных структур методом конъюгации отдельных цепей. В ходе настоящей работы были синтезированы органические полиазиды и олигонуклеотиды, содержащие терминальные алкиновые группы. Конъюгация этих блоков приводит к образованию разветвленных структур, содержащих несколько олигонуклеотидных цепей.

Полученные разветвленные блоки проявляют интересные гибридизационные свойства. В частности, показано, что ход самосборки наноструктур на основе триолигонуклеотидных конъюгатов может контролироваться посредством варьирования концентрации иона магния в гибридизационном буфере.

## **ОРТОПОКСВИРУСЫ В БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ**

**Щелкунов С.Н.**

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск, Россия

ФГУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии "Вектор" Роспотребнадзора  
п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

snschel@vector.nsc.ru

Ортопоксвирусы (вирусы натуральной оспы, оспы обезьян, оспы коров, осповакцины) представляют большой интерес для бионанотехнологии как источник самособирающихся мультимерных блокаторов фактора некроза опухолей, интерферонов, некоторых интерлейкинов и хемокинов, а также белков системы комплемента. Кроме того, вирус осповакцины может быть использован для создания современных безопасных живых вакцин (как против инфекций, так и против раковых опухолей) и в качестве молекулярного вектора для продукции одновременно нескольких чужеродных белков при инфицировании/иммунизации человека или животных.

Обсуждаются результаты исследований по указанным направлениям, полученные в отделе автора, и рассматриваются перспективы использования ортопоксвирусов при разработке новых терапевтических препаратов для медицинских целей.

Работа поддержана грантами РФФИ (06-04-48074а, 09-04-00055а), МНТЦ (1685р) и Интеграционным проектом СО РАН (№ 15).



## BIOMACROMOLECULAR INTERACTIONS ON ELECTRICALLY READABLE MICROCHIPS

### **Sprinzi M.**

Laboratorium für Biochemie, Universität Bayreuth, Germany

mathias.sprinzi@uni-bayreuth.de

Transduction of specific biochemical interactions to electrically readable signals is the main objective of the investigations. The aim is to develop analytical devices (biochips) for use in diagnostics, biotechnology and environmental analysis.

Specific biomacromolecular interactions direct a reporter enzyme (1) for binding to gold electrodes where an electrochemically detectable molecule is enzymatically synthesized. Biomacromolecular reactions used for electrically readable biochips can work on different principles e.g. DNA/DNA, DNA/protein, protein/protein or RNA/protein interactions. RNA-aptamers, ribozymes and riboswitches can be also used for construction of biochips and used for sensitive and simple identification of whole cells, proteins, metabolites and small organic molecules with hand-held, electrically readable, instruments. Examples for detection of bacteria by hybridisation with 16S RNA, amino acid analysis in physiological fluids, detection of toxic substances in water and analysis of micro RNA (2, 3) will be presented.

Supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft Sp 243/1-1/2, Forschungsbereich der Ernährungsindustrie AiF 230 ZN and Siemens AG-CT, Erlangen, Germany

1) Wang Y, Stanzel M, Gumbrecht W, Humenik M, Sprinzi M. (2007) Esterase 2-oligodeoxynucleotide conjugates as sensitive reporter for electrochemical detection of nucleic acid hybridization. *Biosens Bioelectron.* 15, 1798-806.

2) Pöhlmann C, Wang Y, Humenik M, Heidenreich B, Gareis M, Sprinzi M. (2009) Rapid, specific and sensitive electrochemical detection of foodborne bacteria. *Biosens Bioelectron.* 15, 2766-71.

3) Humenik M, Pöhlmann C, Wang Y, Sprinzi M. (2008) Enhancement of electrochemical signal on gold electrodes by polyvalent esterase-dendrimer clusters. *Bioconjug Chem.* 19, 2456-61.

## **Постерные доклады**



## **СОЗДАНИЕ ГЕННОЙ ОСНОВЫ ВИРУСОПОДОБНЫХ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ ДОСТАВКИ ГЕНОВ-УБИЙЦ ТК HSV И GM-CSF В КЛЕТКИ ОПУХОЛИ**

**Алексеенко И.В.**, Копанцев Е.П., Виноградова Т.В., Свердлов Е.Д.  
Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и  
Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия  
irina.alekseenko@mail.ru

Тимидинкиназа вируса простого герпеса (ТК HSV) превращает нуклеозидные аналоги (ганцикловир, ацикловир) в токсичные метаболиты, что приводит к подавлению синтеза ДНК и активности РНК-полимеразы в опухолевых клетках и их гибели.

Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) – представитель семейства цитокинов, стимулирует рост, созревание, дифференцировку гранулоцитов и антиген-представляющих клеток (АПК), обеспечивая индукцию иммунного ответа.

Совместная экспрессия кДНК ТК HSV и hGM-CSF в клетках опухоли приведет к гибели раковых клеток и высвобождению из них опухолевых антигенов, которые будут эффективно представляться GM-CSF-активированными АПК клетками Т-клеткам иммунной системы, обеспечивая активацию специфического противоопухолевого иммунитета.

В данной работе были получены бицистронные экспрессионные конструкции на основе плазмиды pGL3 (Promega, США), содержащие кДНК ТК HSV и hGM-CSF под контролем промоторов цитомегаловируса или гена BIRC5. Эффективность работы полученных конструкций была показана при транзientной трансфекции клеток линий HEK293 и Calu1. Экспрессия и биологическая активность тимидинкиназы в составе полученных конструкций была подтверждена с помощью вестерн-блот анализа и функционального теста на цитотоксичность ТК HSV при последующей обработке ганцикловиром. Экспрессию и функциональную активность hGM-CSF подтверждали иммуноферментным анализом и функциональным тестом на hGM-CSF – зависимой клеточной линии TF1.

Полученные конструкции предполагается использовать в дальнейшем для создания генно-терапевтических противоопухолевых препаратов.

Работа поддержана Федеральной целевой программой «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2012 гг.», государственный контракт № 02.522.11.2005 и грантом Президента Российской Федерации для государственной поддержки ведущей научной школы Российской Федерации НШ-2395.2008.4

# ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕМЕНТАРНЫХ ДУПЛЕКСОВ, ОБРАЗОВАННЫХ ПЕПТИДНЫМИ НУКЛЕИНОВЫМИ КИСЛОТАМИ, ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ НА НАНОЧАСТИЦЫ ДИОКСИДА ТИТАНА

Амирханов Р.Н.<sup>1,2</sup>, Амирханов Н.В.<sup>1</sup>, Кузнецов Н.А.<sup>1</sup>, Ломзов А.А.<sup>1</sup>, Шикина Н.В.<sup>3</sup>, Исмагилов З.Р.<sup>3</sup>, Зарытова В.Ф.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, Новосибирск, Россия

pariman@niboch.nsc.ru

Пептидные нуклеиновые кислоты (ПНК) являются одними из перспективных аналогов НК, используемых в качестве геннаправленных препаратов. Для доставки ПНК в клетки млекопитающих в качестве носителя, наряду с другими препаратами, могут быть использованы различные твердофазные носители. В качестве временной привязки ПНК к твердофазным частицам могут быть использованы ДНК/ПНК гибридные комплексы, иммобилизованные на поверхность частиц. Предполагается, что ПНК, иммобилизованные на носитель в составе дуплекса, после доставки в клетки должны диссоциировать из гибридного дуплекса в цитоплазму клетки, гибридизоваться со специфической НК-мишенью и ингибировать экспрессию нежелательных генов в клетке.

В данной работе были исследованы кинетические и термодинамические характеристики различных ДНК/ДНК и ДНК/ПНК гибридных комплексов, образованных как в растворе, так и на поверхности микрочастиц диоксида титана (TiO<sub>2</sub>). Показано, что величины температур плавления, а также скоростей ассоциации и диссоциации ДНК/ДНК и ДНК/ПНК гибридных дуплексов значительно отличаются друг от друга. Термостабильность ДНК/ПНК гибридных дуплексов в растворе намного (на 20–25 °С) выше, чем термостабильность аналогичных природных ДНК/ДНК дуплексов. С другой стороны, термостабильность ДНК/ПНК гибридных дуплексов, иммобилизованных на поверхность TiO<sub>2</sub>-частиц, понижается на 8–12 °С по сравнению с T<sub>m</sub> аналогичных ДНК/ПНК гибридных дуплексов в растворе. При этом время полудиссоциации частично перекрываемых ДНК/ПНК гибридных дуплексов (перекрывание 10 н.п.) в физиологических условиях составляет ~2–5 мин, т.е. стабильность дуплексов с таким количеством перекрываний комплементарных оснований недостаточна для доставки ПНК в живые клетки организма с помощью TiO<sub>2</sub>-частиц. В связи с этим делается вывод, что необходимо использовать более термостабильные гибридные ДНК/ПНК дуплексы с перекрыванием комплементарных оснований более чем 10 н.п.

Работа поддержана интеграционным грантом СО РАН № 61, РФФИ № 08-04-01045-а.

## **ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СУЛЬФИДА КАДМИЯ НА АКТИВНОСТЬ ДНК-ПОЛИМЕРАЗ В ОБРАЩЕННЫХ МИЦЕЛЛАХ**

**Анарбаев Р.О.,** Лаврик О.И.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины, Новосибирск, Россия

anarbaev@niboch.nsc.ru

В связи с разработкой и внедрением в практику нанотехнологий, базирующихся на использовании наночастиц, становится актуальным вопрос о возможных последствиях использования этих технологий на здоровье человека (нанобезопасность), в особенности на сохранность генетической информации (наследственность и болезни, связанные с повреждением ДНК). В данной работе исследуется влияние наночастиц сульфида кадмия на активность ДНК-полимеразы беты, ключевого фермента системы репарации ДНК, в системе обращенных мицелл. Показано, что в темноте эти наночастицы не оказывают влияния на активность полимеразы вплоть до микромолярных концентраций. Однако, при облучении светом в ультрафиолетовом и даже в видимом диапазоне (в зависимости от размеров наночастиц) наблюдается сильное ингибирование фермента в наномолярном диапазоне концентраций наночастиц. Ингибирование, по-видимому, является результатом повреждения полимеразы и ДНК радикалами, генерируемыми наночастицами при их облучении. Кроме того, в работе рассматриваются проблемы синтеза и стабилизации наночастиц в водных растворах и в обращенных мицеллах сложного состава, в том числе в присутствии биополимеров.

Работа поддержана программой РАН «Основы фундаментальных исследований нанотехнологий и наноматериалов», проект № 68.

## **АНАЛИЗ СЕЛЕКТИВНОСТИ ГИБРИДИЗАЦИИ ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ЗОНДОВ С ПОМОЩЬЮ ТЕХНИКИ ПАРАЛЛЕЛЬНОЙ ФЛУОРОМЕТРИИ**

**Анюшин А.В.**<sup>1,2</sup>, Кабилов М.Р.<sup>1</sup>, Пышный Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Новосибирский Государственный Университет, Новосибирск, Россия  
kabilov@niboch.nsc.ru

Молекулярная гибридизация нуклеиновых кислот и олигонуклеотидов находит широкое применение в различных областях молекулярной биологии, ДНК-диагностики и бионанотехнологии. В настоящее время постоянно растет спрос на высокочувствительные и высокоточные системы анализа локальной структуры ДНК и молекулярные инструменты исследований биологических процессов на основе олигонуклеотидов. Все это требует разработки подходов к направленному конструированию олигонуклеотидов, удовлетворяющих экспериментальным задачам и требованиям. В то же время существующая база для расчета комплексообразующих свойств олигонуклеотидных зондов недостаточна для однозначного прогноза их поведения в аналитической системе, связанной, например, с выявлением однонуклеотидных замен в ДНК. Таким образом возникает задача разработки новых подходов к анализу термодинамических характеристик комплексообразования перспективных зондов, позволяющему на количественном уровне описать их преимущества и недостатки относительно нативных предшественников.

Создание таких подходов в значительной степени ускорит поиск высокоселективных олигонуклеотидных конструкций, например, на основе модифицированных олигонуклеотидов, а также скрининг условий комплексообразования, обеспечивающих повышение эффективности дискриминации мутаций с помощью аллель-специфичной гибридизации (АСГ).

В данной работе продемонстрирована перспективность использования современных флуорометрических подходов к параллельному анализу влияния различных возмущений структуры ДНК/ДНК-комплексов на селективность АСГ. Представлены результаты влияния дополнительного мисматча, ионной силы, рН и композиции гибридизационного буфера на эффективность дискриминации несовершенной пары оснований.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантами программ Президиума РАН “МКБ” 23.12, “ОФИНиН”, интеграционными грантами СО РАН и частично ГК ФАНИ.

## **НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ ГАПТЕН-СПЕЦИФИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ КАНЦЕРОГЕННЫХ ЧАСТИЦ С ИММУННОЙ СИСТЕМОЙ**

**Апалько С.В.<sup>1</sup>, Глушков А.Н.<sup>1</sup>, Филиппенко М.Л.<sup>2</sup>, Матвеева В.А.<sup>2</sup>,  
Храпов Е.А.<sup>2</sup>, Костялко М.В.<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>Институт экологии человека СО РАН, Кемерово, Россия

<sup>2</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия  
apalko@ngs.ru

Контакт человека с наноразмерными частицами (НЧ) может приводить к повреждению поверхностного эпителия органов дыхания, желудочно-кишечного тракта, кожи с дальнейшим развитием заболеваний, в том числе онкологических. Опасность НЧ может усугубляться тем, что на их поверхности могут быть адсорбированы низкомолекулярные органические соединения – химические канцерогены, усиливающие патогенное действие НЧ. Однако взаимодействие НЧ с адсорбированными на них химическими канцерогенами с иммунной системой остаются малоизученными.

Целью настоящей работы явилось получение антител (АТ) против химических канцерогенов для исследования их способности инактивировать НЧ, содержащие на своей поверхности химические канцерогены.

Получена гибридома, секретирующая моноклональные АТ (мАТ В2), после иммунизации мышей конъюгатом бензо[а]пирена с белком-носителем. Показано, что мАТ В2 реагируют с бензо[а]пиреном, бенз[а]антраценом, но не с другими полициклическими ароматическими углеводородами (хризеном, пиреном, антраценом) и не с нафталином, бензо[а]флуореном, бензо[б]флуореном, флуорантеном, флуореном, стильбеном, прогестероном, прегненолоном, эстроном, эстрадиолом, триптофаном, фенилаланином. Эти свойства мАТ В2 могут быть использованы при получении вакцин для защиты организма от НЧ с адсорбированными на них химическими канцерогенами.



## НЕКОВАЛЕНТНЫЕ ГИБРИДЫ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ С УГЛЕРОДНЫМИ НАНОТРУБКАМИ

Апарцин Е.К.<sup>1</sup>, Новопашина Д.С.<sup>1</sup>, Зайковский В.И.<sup>2</sup>, Новопашин С.А.<sup>3</sup>,  
Веньямина А.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Институт катализа СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>Институт теплофизики СО РАН, Новосибирск, Россия  
eapartsin@mail.ru

Углеродные нанотрубки (УНТ), обладающие химической инертностью и совместимостью с биомакромолекулами и клетками, активно исследуются в разных областях нанобиотехнологии и биомедицины. Одной из перспективных областей применения УНТ является конструирование на их основе биосовместимых транспортеров функциональных нуклеиновых кислот (НК) в клетки.

В данной работе предложен новый метод получения комплексов олигонуклеотидов с УНТ, основанный на стэкинг-взаимодействии пиренильных конъюгатов олигонуклеотидов с нанотрубками. Этот метод не требует применения жестких условий на стадии модификации поверхности УНТ и отличается относительной простотой синтеза пиренильных производных олигонуклеотидов и более высокой плотностью функционализации по сравнению с другими методами. Кроме того, концы нанотрубок остаются доступными для ковалентной модификации другими группами, что позволяет получать мультифункциональные УНТ.

Проведено сравнительное изучение образования нековалентных конъюгатов одностенных и многостенных УНТ на примере модельных олигодезоксирибонуклеотидов, их 2'-О-метилрибоаналогов и их конъюгатов с пиреном. Методом просвечивающей электронной микроскопии продемонстрировано образование гибридов олигонуклеотидов с УНТ. Показано, что введение пиренильного остатка повышает способность олигонуклеотидов образовывать комплексы с УНТ. Изучены спектральные и флуоресцентные свойства полученных гибридов. Продemonстрировано отсутствие разрывов и продуктов окисления в процессе получения гибридов олигодезоксирибонуклеотидов и УНТ путем обработки их смеси ультразвуком.

Полученные результаты демонстрируют возможность использования предложенного подхода для создания перспективных бионанотранспортеров функциональных НК (антисенс олигонуклеотиды, siРНК, НК-энзимы, аптамеры) на основе УНТ.

Работа поддержана грантом РФФИ (№ 08-04-01634-а), ГК ФАНИ № 02.522.12.2005 и программой №27 фундаментальных исследований Президиума РАН (проект №62).

## **ИЗМЕРЕНИЕ pH СРЕДЫ В РАКОВОЙ ТКАНИ ПРИ ПОМОЩИ pH-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ЗОНДОВ НА ОСНОВЕ НИТРОКСИЛЬНЫХ РАДИКАЛОВ**

**Божко Ю.Ю.**<sup>1</sup>, Комаров Д.А.<sup>1</sup>, Кирилюк И. А.<sup>2</sup>, Бобко А.А.<sup>3</sup>, Слепнева И.А.<sup>1</sup>, Юбанк Т.<sup>3</sup>, Храмцов В.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт Химической Кинетики и Горения СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Новосибирский институт органической химии СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>Медицинский центр государственного университета штата Огайо, Колумбус, США

yulia\_bozhko@mail.ru

Величина pH внеклеточной среды опухоли является важным прогностическим фактором зарождения и развития опухолевых образований. Для разработки метода регистрации pH внеклеточной среды *in vivo* был синтезирован нитроксильный радикал имидазолинового типа с «пришитым» глутатинильным остатком (R-SG). Методом спектроскопии электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) определены константа ионизации  $pK_a=6,67\pm 0,02$  и бимолекулярная константа скорости восстановления R-SG аскорбиновой кислотой. Было показано, что биологические мембраны не проницаемы для R-SG зонда, что позволило использовать его для регистрации внеклеточной pH в тканях *in vivo* методом ЭПР L-диапазона. Показано, что кислотность внеклеточной среды ткани перевитой опухоли рака груди у мышей характеризуется значением  $6,60\pm 0,10$ , что на 0,5 единиц ниже по сравнению с кислотностью нормальной ткани.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 08-03-00432а.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ ОЛИГОДЕПОЛИМЕРИЗОВАННОГО ХИТОЗАНА ДЛЯ ПОДАВЛЕНИЯ РЕПЛИКАЦИИ ВИРУСА HSV-2 С ПОМОЩЬЮ КОРОТКИХ ИНТЕРФЕРИРУЮЩИХ (si)РНК.**

**Борисенко А.С.,** Ганковская О.А., Кривцов Г.Г., Файзулов Е.Б., Лавров В.Ф.  
ГУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН, Москва, Россия  
gtvibor@yandex.ru

Нами был синтезирован поликатионный носитель на основе олигодеполимеризованного хитозана (ОДХ), способный связывать молекулы нуклеиновых кислот. Показано, что полученные частицы ОДХ-ДНК имеют размеры 15-20 нм и обеспечивают эффективную трансфекцию клеток различного тканевого генеза (MeVO-70-80% , Vero-15-20% и т.д.) согласно данным анализа  $\beta$ -галактозидазной активности. Для исследования противовирусной активности в отношении вируса герпеса простого 2 типа (HSV-2) мы синтезировали короткие интерферирующие (si)РНК к транскрипту гена UL-48, кодирующему белок VP-16, играющему важную роль в репликации вируса. В частности создано три siРНК: SR-1 против 5'-нетранслируемой области, SR-2 к центральной части тела гена и SR-3 к 3'-региону. Вирус HSV-2 вносили в концентрации 0,01, 0,001 и 0,0001 ТЦД50/кл в лунки с 24-х часовой культурой клеток Vero и инкубировали в течение 4-х часов при 37°C, в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Далее вирусодержащую жидкость отбирали и добавляли полученные ранее конструкторы в комплексе с ОДХ-siРНК. Инкубация клеток с препаратами также проводилась в течение 4-х часов при 37°C, в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>, после чего проводилась отмывка культуры клеток Vero от несвязавшихся комплексов и культивирование клеток в ростовой культуральной среде. Через 48 часов был проведен визуальный анализ полученных результатов, а также определение вирусного титра культуральной жидкости в экспериментальных и контрольных лунках. Конструкции siРНК к вирусному гену UL48 высокоэффективны и обладают противогерпетическим действием, которое выражается не только в подавлении цитопатического действия вируса HSV-2 в культуре клеток Vero, но и в снижении титра «вирусного потомства» на 4 lg ТЦД50/0,1мл (приблизительно в 10000 раз относительно контроля). Наибольшим противовирусным эффектом обладал конструктор SR-2, мишень которого находилась в центре мРНК вирусного белка VP-16.

## **НАНОБИОТЕХНОЛОГИИ: БИБЛИОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПУБЛИКАЦИЙ НА ОСНОВЕ РЕФЕРАТИВНОЙ БАЗЫ ДАННЫХ «SCOPUS» (ИЗДАТЕЛЬСТВО «ELSEVIER»)**

**Бусыгина Т.В.**

Государственная публичная научно-техническая библиотека СО РАН,  
Новосибирск, Россия  
busig@spsl.nsc.ru

На основе базы данных «Scopus» (реферативная база данных издательства Elsevier, доступна по адресу: <http://www.scopus.com/scopus/home.url>) проведено библиометрическое исследование документально-информационного потока по нанобиотехнологиям. Выявлены состав типов и видов публикаций, динамика публикационной активности за период с 1995 по текущий год, список авторов, имеющих наибольшее число публикаций. Установлен круг журналов, в которых представлено наибольшее количество статей по рассматриваемой тематике, выявлены ведущие организации и страны-поставщики информации.

## **СЕПАРАЦИЯ КЛЕТОК ПРИ ПОМОЩИ МИКРОКАНАЛЬНЫХ КРЕМНИЕВЫХ МАТРИЦ**

**Вайнер О.Б.**<sup>1</sup>, Пышная И.А.<sup>1</sup>, Пышный Д.В.<sup>1</sup>, Дмитриенко Е.В.<sup>1</sup>, Скворцова Т.Э.<sup>1</sup>, Запорожченко И.А.<sup>1</sup>, Морозкин Е.С.<sup>1</sup>, Лосева Е.М.<sup>1</sup>, Вандышева Н.В.<sup>2</sup>, Романов С.И.<sup>2</sup>, Лактионов П.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Институт Физики Полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН, Новосибирск, Россия

olga\_vai@niboch.nsc.ru

В последние годы интенсифицируются работы в области использования микрофлюидных устройств в биологии и, в частности, для выделения клеточных популяций. Мы исследовали возможность использования микроканальных мембран в качестве селективных клеточных фильтров.

Был разработан способ получения микроканальных кремниевых мембран (МКМ), которые представляют собой структуру с упорядоченно расположенными сквозными микроканалами размером 2-30 мкм, с монолитным обрамлением микроканальной области фильтра и однотипной внутренней поверхностью. На основе МКМ было изготовлено проточное устройство для клеточной сепарации. Для рецептор специфичной сепарации клеток были предложены и отработаны методы модификации поверхности МКМ и ковалентной иммобилизации на ней низко- и высокомолекулярных лигандов, несущих аминокислотную группу в своем составе. С использованием разработанных подходов были получены МКМ, несущие на своей поверхности моноклональные антитела к лигандам клеточной поверхности. Для анализа эффективности сепарации были разработаны методы, позволяющие детектировать отдельные онкотрансформированные и эмбриональные клетки, а именно количественные ПЦР, предназначенные для выявления абберантного метилирования гена RARbeta и Y-хромосомоспецифичного гена DAZ, а также генов актина, LINE и Alu элементов. Исследованы и отработаны гидравлические условия клеточной сепарации на микроканальных матрицах и показано, что МКМ с размером пор 7x7 мкм проницаемы для клеток сравнимого размера и могут быть использованы для выделения популяций живых клеток из крови. Работа поддержана ГК ФАНИ № 02.512.11.2226.

## НАПРАВЛЕННАЯ САМОСБОРКА НАНОАССОЦИАТОВ НА ОСНОВЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

**Виноградова О.А.<sup>1</sup>**, Ломзов А.А.<sup>1</sup>, Филиппов Н.С.<sup>1,2</sup>, Пышный Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН, Новосибирск, Россия  
viola@niboch.nsc.ru

Структурная ДНК-нанотехнология – это новая область, создающая высоко структурированные и упорядоченные материалы наноразмера на основе нуклеиновых кислот (НК). Для более эффективного развития этого направления необходимо детальное изучение как особенностей процесса самоассоциации многокомпонентных структур на основе НК, так и зависимости пространственной организации получаемых наноконструкций от строения их составных блоков.

Целью данной работы является разработка подходов к детальному описанию комплексообразования олигонуклеотидов в многокомпонентные дуплексы и изучение возможности направленного изменения пространственной структуры наноассоциатов за счет варьирования внешних условий, композиции составных частей и введения в них модификаций. Исследования проводили, используя в качестве модельных объектов конкатамерные олигонуклеотидные конструкции. Конкатамерные комплексы ДНК – полимерные структуры на основе олигонуклеотидов, образующиеся в результате самоассоциации коротких фрагментов ДНК. Методом задержки в геле исследовано влияние температуры среды, структуры составных НК-блоков, наличия стоппера (олигомера терминирующего рост полимерной цепи) на распределение конкатамерных комплексов по длине. Доказано, что наличие стоппера не приводит к изменению стабильности конкатамерного комплекса, ограничивая лишь его длину. Методом остановленной струи показано, что кинетика ассоциации конкатамерной структуры мало отличается от кинетики формирования простого комплекса. Установлена природа влияния ненуклеотидных вставок в составе ДНК-блоков на конформационные особенности конкатамерного дуплекса. Сконструированы ДНК-нанообъекты с нетипичной для нативных НК-комплексов пространственной формой, характеристические параметры которой задаются при выборе модельной системы.

Точное понимание взаимосвязи структуры олигонуклеотидов и пространственной организации комплексов на их основе открывает перспективы направленной сборки новых биосовместимых наноматериалов и наноустройств, включая биосенсоры и наноконтейнеры.

Работа выполнена при финансовой поддержке Президиума РАН («МКБ», «ОФИНИН»), междисциплинарными интеграционными грантами СО РАН (№ 76, 9, 39) и частично НШ-3689.2008.4, ГК ФАНИ № 02.512.11.2226, 2220, 02.513.12.3010.

## **ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ РАЗНЫХ ФОРМ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА И ЕГО РЕКОМБИНАНТНОГО АНАЛОГА С ОЛИГО- И ПОЛИРИБОНУКЛЕОТИДАМИ**

**Годовикова Т.С.<sup>1,2</sup>, Герасимова Ю.В.<sup>1,2</sup>, Бобик Т.В.<sup>3</sup>, Понамаренко Н.А.<sup>3</sup>, Шакиров М.М.<sup>4</sup>, Попова Т.В.<sup>1,2</sup>, Кнорре Д.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Россия

<sup>4</sup>Новосибирский институт органической химии СО РАН, Новосибирск, Россия

tatyana\_godov@mail.ru

Взаимодействие антисмысловых олигонуклеотидов с сывороточными и клеточными белками определяет их фармакокинетику, фармакодинамику и, следовательно, их фармакологию. Одним из основных белков плазмы крови, связывающих олигонуклеотиды и их производные, является человеческий сывороточный альбумин (HSA). Данный белок широко применяется в медицине в качестве фармпрепарата в случаях травматического шока, нефротических синдромов, цирроза печени и др.. Используемый в медицине препарат HSA получают фракционированием плазмы донорской крови, поэтому белок может быть загрязнен такими опасными вирусами, как вирусы гепатитов, иммунодефицита человека и др.. С точки зрения биобезопасности целесообразно применять в качестве фармпрепарата рекомбинантный белок (rHSA).

Сравнительный анализ спектров КД белка, экспрессируемого в метилотрофных дрожжах *Pichia pastoris*, и альбумина, выделенного из сыворотки донорской крови, показал идентичность вторичных структур обоих белков. Результаты анализа РНК-гидролизующей активности белков также подтверждают правильность сворачивания rHSA. Деполимеризация олиго- и полирибонуклеотидов в присутствии генно-инженерного препарата альбумина и HSA протекает с одинаковой скоростью, по механизму внутримолекулярной трансэтерификации с образованием продуктов с 2,'3'-циклофосфодиэфирной группировкой, которые далее медленно гидролизуются до нуклеозид-3'- и нуклеозид-2'-фосфомоноэфиров. Анализ зависимости скорости расщепления альбумином фосфодиэфирных связей в РНК от pH свидетельствует о том, что гидролиз протекает по механизму кислотно-основного катализа. Неферментативное гликозилирование и N-гомоцистеинилирование альбумина приводят к существенной потере его РНК-гидролизующей активности.

Обнаружено, что каталитические свойства и субстратная специфичность HSA в реакции гидролиза РНК отличаются от свойств секреторных РНКаз человека.

Работа выполнена при поддержке интеграционного гранта № 88 СО РАН и гранта РФФИ 09-04-01483-а.

## **САМООРГАНИЗАЦИЯ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК И ПОЛИМЕРОВ: ФОРМИРОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ НАНОЧАСТИЦ С ЗАДАНЫМИ СВОЙСТВАМИ**

**Дежуров С.В.**, Волкова И.Ю., Вакштейн М.С.

Федеральное государственное унитарное предприятие «Научно-исследовательский институт прикладной акустики», Дубна, Россия  
sergey.dezhurov@niipa.ru

Разработка высокоспецифичных и чувствительных меток с использованием флуорофоров чрезвычайно актуальная задача в таких областях науки и техники как молекулярная и клеточная биология, а также молекулярная визуализация и медицинская диагностика. Среди известных флуорофоров (органические красители, комплексы переходных металлов, нанокристаллы и др.) наиболее перспективными сегодня с точки зрения оптических свойств являются наночастицы на основе коллоидных нанокристаллов или квантовых точек (КТ) CdS, CdSe, CdTe, покрытых различными оболочками (ZnS, органический лиганд, синтетический полимер, биополимер и др.) или комбинацией нескольких оболочек. Варьирование длин волн эмиссии частиц в широком диапазоне (360-900 нм), узкая ширина пика эмиссии (до 18 нм на полувысоте) и широкий спектр поглощения достигаются за счет уникальных свойств самих нанокристаллов. При этом внешнее покрытие поверхности наночастицы может обладать заданными физико-химическими свойствами после введения определенного лиганда. В данной работе проведен синтез водорастворимых квантовых точек CdS/ZnS и CdSe/ZnS с различными лигандами (3-меркаптопропионовая кислота, производные полиакриловой кислоты). Показана возможность самоорганизации полученных квантовых точек с различными белками, в том числе флуоресцирующими, с образованием стабильных комплексов. Такие взаимодействия подтверждаются данными динамического светорассеяния и возникновением флуоресцентно-резонансного переноса энергии (FRET) в случае флуоресцирующих белков.



## СОЗДАНИЕ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ ПОЛИМЕРОВ, ОБЛАДАЮЩИХ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ПАМЯТЬЮ

Дмитриенко Е.В.<sup>1,2</sup>, Пышная И.А.<sup>1</sup>, Пышный Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия  
Elena.Dmitrienko@niboch.nsc.ru

Выделение различных биомолекул, их селективное выявление зачастую предполагает использование высокоспецифичных агентов. В связи с этим представляет интерес создание искусственных наноструктурированных материалов, способных распознавать и связывать биомолекулярные мишени и/или их специфические фрагменты («эпитопы»). Считается, что молекулярно-импринтированные полимеры (МИПы) являются одними из наиболее перспективных материалов такого типа. МИПы (пленки, частицы, порошки), содержащие отпечатки молекул-мишеней, рассматриваются в качестве ключевых элементов современных биоаналитических систем.

В данной работе представлен вариант получения наноструктурированных полимеров, способных к специфичному взаимодействию с низко- и высокомолекулярными соединениями. С использованием капрона в качестве твердотельной основы продемонстрирована возможность получения подложек, обладающих средством к биомолекулам нуклеотидной и белковой природы.

Мы предложили простой способ получения препаратов капрона, в пористой структуре которого сформированы сайты узнавания молекулы-шаблона. Отработаны процедуры осаждения капрона из его растворов, содержащих, помимо полимера-носителя, молекулу-шаблон и другие функциональные добавки (например, порогены). Определен состав растворителей, обеспечивающий растворение капрона и биомолекул. Показано, что 1) полимерный каркас, получаемый в результате испарения растворителя или осаждения в воде и исчерпывающих промывок, обладает "молекулярной памятью", т.е. способностью распознавать молекулу-шаблон, оставившую отпечаток в водонерастворимой фазе; 2) ферменты (например, щелочная фосфатаза), захватываемые капроном при формировании им твердой фазы, частично сохраняют свою каталитическую активность.

Таким образом, предложен способ получения молекулярно-импринтированного наноструктурированного капрона, который при дальнейшей оптимизации, позволит разработать подход к созданию специфических сорбентов или подложек, несущих отпечатки биомолекул различной природы или их «эпитопов».

Работа выполнена при финансовой поддержке Президиума РАН («МКБ», «ОФИНИН»), междисциплинарными интеграционными грантами СО РАН (№ 76, 9, 39) и частично ГК ФАНИ № 02.512.11.2226, 02.513.12.3010, программой У.М.Н.И.К. № 13-08-4.

## **ИССЛЕДОВАНИЕ БИОДЕГРАДАЦИИ И ВРЕМЯ-РАЗРЕШЕННОЙ МИКРОВОЛНОВОЙ ЛЮМИНИСЦЕНЦИИ ФМР-НАНОФОСФОРА К-16М – ПЕРСПЕКТИВНОГО ЖКТ-КОНТРАСТИРУЮЩЕГО ВЕЩЕСТВА**

**Дудников А.В.**

Институт ядерной физики СО РАН им. Будкера А.М., Новосибирск, Россия  
N.K.Kuksanov@inp.nsk.su

Первые ферро-магнитно-резонансно(ФМР)-томографические изображения пищеварительного тракта прудовика были продемонстрированы в 2003 г.

Полученные данные свидетельствуют, что по диагностической значимости изображения, получаемые с помощью феррорезонансного томографа сопоставимы с результатами анализа стандартных контрастированных сульфатом бария рентгеновских снимков. Кроме того, микроволновое излучение, необходимое для возбуждения резонансной люминисценции контраста на основе НАНОФОСФОРА и поглощаемое биологическими тканями при ФМР-интроскопии настолько слабо нагревает образцы, что оказывает на них воздействие, несомненно, не более существенное, чем рентгеновское излучение. Это указывает на перспективность разработки методической части ФМР-томографии и на необходимость анализа биосовместимости контрастирующих агентов такого типа.

Разрешение ФМР-томографа определяется величиной, градиентом магнитного поля и типом используемого контраста. Одним из наиболее эффективных контрастов может оказаться препарат на основе микролатекса К-16М, содержащего смешанный редкоземельный диэлектрический феррит, отличающийся исключительно слабой анизотропией фактора магнитного спектроскопического расщепления. Показано, что при концентрации данного НАНОФОСФОРА в органе-мишени более 80 мкг/г разрешение томографа оказывается субмиллиметровым и достаточным для диагностики различного типа новообразований. Полученные данные указывают, что при внесении в биологические среды данный контраст стабилен и время затухания его люминисценции (в безградиентном поле 2.2КГс магнита) не изменяется, оставаясь порядка микросекунды. Показано, что контраст позволяет использовать и некоторые нерезонансные магнитометрические методы для быстрого выявления высоких концентраций магнетика с пространственным разрешением 3-4 см., в том числе с использованием сконструированных автором рубидиевых магнитометров с лазерной накачкой.

## **ЛИНЕЙНЫЕ ПОЛИЭТИЛЕНИМИНЫ КАК ЭФФЕКТИВНЫЕ ДОСТАВЩИКИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В ЭУКАРИОТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ**

**Ефремов А.Н.**, Рогоза А.В., Пышный Д.В., Сериков Р.Н., Зенкова М.А., Власов В.В.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск, Россия  
efremovlxndr@rambler.ru

Низкая способность НК (нуклеиновых кислот) самостоятельно проникать в клетки и высокая вероятность их деградации нуклеазами приводит к необходимости создания новых и усовершенствованию уже имеющихся систем доставки НК в клетки.

Использование органических катионных соединений в качестве агентов для компактизации НК в наноразмерные комплексы является одним из наиболее распространенных и перспективных подходов к доставке НК в клетки. Среди различных катионных молекул одними из первых и остающимися одними из самых эффективных считаются полиэтиленимины (PEI). Коммерчески доступные препараты PEI могут содержать до 10% пропионильных остатков, расположенных на атомах азота, что приводит к снижению их трансфекционной активности. Целью настоящей работы являлось сравнение трансфекционных свойств коммерчески доступного PEI с молекулярным весом 25 кДа (PEI-25) с линейными полиэтилениминами (IPEI), у которых отсутствовали ацильные остатки на атомах азота полимера.

Показано, что цитотоксичность препаратов (IC<sub>50</sub>) менялась в зависимости от типа клеток (HeLa, Нек-293, KB-31, ВНК) и составляла 1.8-12.4, 0.2-0.7, 0.01-0.3 мкМ для IPEI-22, IPEI-87, IPEI-217 соответственно, а для PEI-25 1.6-12.1 мкМ. Это означает, что цитотоксичность PEI-25 (Sigma) сравнима с цитотоксичностью IPEI близкого молекулярного веса. Сравнение трансфекционной активности препаратов проводили с использованием 5'-FITC-меченного олигодезоксирибонуклеотида и плазмидной ДНК, кодирующей зеленый флуоресцентный белок, при разных отношениях P/N (отношение количества атомов азота в полимере к количеству атомам фосфора в НК). Доставка 5'-FITC-меченного олигонуклеотида в клетки линии HeLa эффективнее всего шла с помощью PEI-25, IPEI-87 и IPEI-217, а количество флуоресцентных клеток было сопоставимо с таковым для Lipofectamine (Lf). В случае трансфекции плазмидной ДНК количество трансфицированных клеток для PEI-87 было в два раза выше, а для PEI-217 сравнимо с показателем для Lf.

## РАСЧЕТ ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МЕТАЛЛИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В БИОМЕДИЦИНЕ

Зимовец С.В.<sup>1</sup>, Гешев П.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Институт теплофизики СО РАН, Новосибирск, Россия

glooug@gmail.com

В последнее время металлические наночастицы (НЧ) находят все более широкое применение в биомедицине. Их уникальные оптические свойства, обусловленные возбуждением плазмонных резонансов (ПР), позволяют применять НЧ для анализа и идентификации биологических объектов (биосенсорика), для визуализации клеточных структур, целевой доставки лечебных препаратов, а также как термические агенты при фототермической терапии рака.

Возбуждение ПР в НЧ происходит на определенной, резонансной длине волны и приводит к многократному увеличению локального электромагнитного поля и резонансному усилению сечения поглощения. Частота и интенсивность ПР имеют критическое значение для использования НЧ в биомедицине. Поэтому создание быстрых и достоверных методов расчета оптических свойств НЧ является чрезвычайно важной задачей.

Разработанный нами метод основан на полных уравнениях Максвелла, которые решаются методом граничных интегральных уравнений в осесимметричной постановке. С его помощью исследуются оптические свойства металлических НЧ, используемых в биомедицине. Исследованы нанопалочки, димеры наночастиц (две близко расположенные НЧ), наноболочки (диэлектрическое ядро, металлическая оболочка), наноболочки со смещенным ядром и их димеры. Проведены оценки нагрева наночастиц.

Было показано, что:

- 1) наноболочки со смещенным ядром демонстрируют коэффициенты усиления, сравнимые с димерами НЧ, и поэтому являются очень перспективными объектами для целей биосенсорики;
- 2) возможность образования димеров в коллективе наноболочек играет существенную роль при использовании их в качестве термических агентов, так как при сближении наноболочек длина волны ПР может смещаться на сотни нанометров в длинноволновую область, где биологические ткани более прозрачны;
- 3) Даже при сравнительно небольшой мощности лазерного излучения нагрев НЧ может быть существенным и это необходимо учитывать. Необходимо проводить минимизацию нагрева в случае биосенсорных НЧ и максимизировать нагрев для термических НЧ.

## **ВЛИЯНИЕ ЦИСПЛАТИН-СОДЕРЖАЩЕГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ НА РОСТ АСЦИТНОЙ КАРЦИОМЫ ЭРЛИХА У МЫШЕЙ**

**Инжеваткин Е.В.<sup>1</sup>, Столяр С.В.<sup>2,3</sup>, Исхаков Р.С.<sup>2,3</sup>, Ладыгина В.П.<sup>1</sup>, Ищенко Л.А.<sup>2</sup>, Пуртов К.В.<sup>4</sup>, Баюков О.А.<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup>Красноярский научный центр СО РАН, Красноярск, Россия

<sup>2</sup>Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия

<sup>3</sup>Институт физики СО РАН, Красноярск, Россия

<sup>4</sup>Институт биофизики СО РАН, Красноярск, Россия

inscience@mail.ru

Магнитные наночастицы ферригидрита  $5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  были получены в результате культивирования бактерий *Klebsiella Oxytoca*. Результаты малоуглового рентгеновского рассеяния высушенной биомассы показывают распределение размеров минеральных образований в диапазоне 4-10 нм с максимумом при 4 нм. Полученные частицы подходят для прикладных задач биомедицины т.к. находятся в суперпарамагнитном состоянии при комнатной температуре, являются устойчивыми в водном растворе (при нейтральном pH) и физиологическом растворе. Кроме того, полученные магнитные частицы биологически нейтральны и могут связывать лекарственные препараты ковалентной связью либо простой адсорбцией.

Проведены исследования влияния цисплатин-содержащего препарата на основе изучаемых наночастиц на рост асцитной карциномы Эрлиха у мышей. Мышам прививалась асцитная карцинома Эрлиха, для этого им внутрибрюшинно вводились опухолевые клетки в количестве около 3 млн на одно животное, после этого на 6, 8, 10, 12 день, считая день прививки первым днем роста опухоли, животным опытной группы внутрибрюшинно вводился препарат магнитных наночастиц, содержащий цисплатин, из расчета 30 мкг цисплатина на одно животное. Контрольную группу составляли интактные животные. На 14 день мыши забивались, у них определяли объем асцита, концентрацию опухолевых клеток в асците, рассчитывали общее количество опухолевых клеток в организме. Как следует из полученных данных, введение препарата приводит к снижению объема опухоли, концентрации опухолевых клеток в асците и уменьшению общего количества опухолевых клеток в брюшной полости животных.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ: гранты 08-08-00427 и 09-04-98038-р\_сибирь\_a.

## НАНОКРИСТАЛЛИЧЕСКИЙ КАРБОНАТГИДРОКСИАПАТИТ ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ

Ковалёва Е.С.<sup>1</sup>, Шабанов М.П.<sup>1</sup>, Путляев В.И.<sup>1</sup>, Фадеева И.В.<sup>2</sup>, Комлев В.С.<sup>2</sup>,  
Гурин А.Н.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Московский Государственный Университет, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт металлургии и материаловедения РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>ЦНИИС и ЧЛХ Росмедтехнологий, Москва, Россия

alenakovaleva@gmail.com

В процессе бурного развития медицины одной из ключевых проблем по-прежнему остаётся поиск новых материалов, пригодных для использования в качестве костных имплантантов. Желательно, чтобы материал, используемый для имплантации, обладал высокой биорезорбцией и стимулирующим воздействием на рост новой костной ткани - остеиндукцией.

С давних пор гидроксиапатит является широко распространенным материалом в медицине для лечения поврежденных костных тканей благодаря химическому и фазовому подобию неорганической составляющей костной ткани. Однако чистый гидроксиапатит не обладает достаточной биорезорбцией и остеиндукцией, но его характеристики могут быть улучшены путем внедрения в кристаллическую структуру некоторых ионов.

Известно, что в качестве изоморфных примесей в кристаллическую решетку ГАП могут входить различные катионы и анионы. Изначально круг возможных допантов ограничен по медико-биологическим причинам, т.е. модификатор должен быть совместимым с живой тканью организма, либо удаляться в процессе получения материала.

Перспективным считается материал на основе карбонатсодержащего гидроксиапатита  $Ca_{10-x}Na_x(PO_4)_6-x(CO_3)x(OH)_2$  (КГАП), который более точно воспроизводит состав костной ткани по сравнению с немодифицированным ГАП и обладает повышенной биорезорбцией вследствие микроискажений, возникающих при вхождении карбонат-иона в структуру апатита. В связи с этим работа нацелена на направленную химическую модификацию, используя прием частичного замещения фосфатных групп в структуре гидроксиапатита, что позволяет увеличить растворимость биоматериала с целью получения биорезорбируемых имплантантов.

В работе получены нанопорошки КГАП с замещением  $CO_3^{2-}$  до 13,6 % весовых (замещение Na пренебрежимо мало). Совокупность данных позволяет утверждать, что нанопорошки карбонатгидроксиапатита являются биосовместимыми, обладают высокой адгезивной способностью к клеткам типа фибробластов, могут применяться в работах по тканевой инженерии и для замены костной ткани.

## **ОПТИЧЕСКАЯ ЭЛЛИПСОМЕТРИЯ: ПРИМЕНЕНИЕ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ**

**Кручинин В.Н.,** Рыхлицкий С.В., Швец В.А., Спесивцев Е.В.

Институт физики полупроводников СО РАН им. А. В. Ржанова, Новосибирск,  
Россия

vladd50@mail.ru

В современной биохимии крайне актуальной задачей является совершенствование методов оценки малых концентраций органических соединений, макромолекулярных комплексов, различных клеточных элементов, в жидких средах и при адсорбции их на поверхности твердых тел (в том числе на поверхности клетки). Это важно как для научных исследований, так и для развития современных нанобиотехнологий. Для этого в настоящее время существует обширный арсенал методов анализа и эллипсометрия занимает в нем особое место, благодаря своим уникальным свойствам: это бесконтактный, прецизионный и высокопроизводительный метод, основанный на анализе состояния поляризации света, отраженного на границе раздела фаз. В нанобиологии и наномедицине эллипсометрия позволяет с высокой чувствительностью и точностью исследовать адсорбционные процессы биополимеров, проводить анализ взаимодействия макромолекул на поверхности биочипов, изучать переходные слои, структуру и состав биоорганических материалов. Кроме того оптическая эллипсометрия давно и успешно применяется для исследования иммунологических реакций, процессов свертывания крови, исследования клеточных структур и глазных сред.

На сегодняшний день в ИФП СО РАН разработано аппаратное обеспечение метода, отвечающего всем потребностям проводимых научных исследований. По функциональному назначению можно выделить следующие классы эллипсометров: спектральные эллипсометры (для диапазона длин волн от ближнего УФ- до ближнего ИК-излучения), in-situ и ex-situ эллипсометры высокого временного разрешения и сканирующие микроэллипсометры, предназначенные для графического отображения распределения физических параметров исследуемой поверхности в сканирующем режиме с высоким пространственным разрешением. Нами разработаны и запатентованы оригинальные конструкции современных автоматических эллипсометров всех вышеуказанных классов. В ряде случаев они обладают рекордными показателями по быстродействию, чувствительности и пространственному разрешению.

## **МЕХАНИЗМ УЗНАВАНИЯ СТОП-КОДОНОВ ФАКТОРОМ ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ ЭУКАРИОТ**

**Крючкова П.Н.,** Алкалаева Е.З.

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

polina.krjuchkova@gmail.com

Одной из важнейших природных наномашин является, как известно, рибосома. С использованием дополнительных белковых факторов она осуществляет биосинтез белка (трансляцию) во всех живых клетках. Понимание молекулярных механизмов стадий трансляции открывает новые возможности для управления жизнедеятельностью клетки.

К настоящему моменту наименее изучена терминация трансляции – заключительная стадия биосинтеза белка. Она происходит в тот момент, когда фактор терминации трансляции eRF1 узнаёт один из трёх стоп-кодонов – UAA, UAG или UGA. Он вызывает гидролиз пептидил-тРНК и высвобождение синтезированного пептида.

Целью настоящей работы стало выявление элементов фактора терминации трансляции eRF1, ответственных за узнавание стоп-кодонов.

Получено более 50 мутантных факторов терминации с точечными заменами более чем по 20 позициям в N-домене eRF1 человека. Определена их функциональная активность в реконструированной системе трансляции эукариот. На основании полученных данных предполагается, что в eRF1 имеется 2 сайта узнавания стоп-кодонов: первый сайт - для узнавания стоп-кодонов UAA и UAG, второй сайт – для узнавания UGA, причем первый сайт образуют аминокислоты F131, S36, Y125, C127 и E55, а второй сайт – аминокислоты S33 и S70.



## МАГНИТНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ПРИЛОЖЕНИЙ

Ладыгина В.П.<sup>1</sup>, Добрецов К.Г.<sup>2</sup>, Столяр С.В.<sup>3,4</sup>, Коленчукова О.А.<sup>5</sup>, Пуртов К.В.<sup>6</sup>, Инжеваткин Е.В.<sup>3</sup>, Ищенко Л.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Международный научный центр исследований экстремальных состояний организма при Президиуме КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия

<sup>2</sup>Дорожная клиническая больница на ст. Красноярск, Россия

<sup>3</sup>Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия

<sup>4</sup>Институт физики СО РАН, Красноярск, Россия

<sup>5</sup>НИИ Медицинских проблем севера СО РАН Красноярск, Россия

<sup>6</sup>Институт биофизики СО РАН, Красноярск, Россия

ladygins@akadem.ru

В последнее время отмечается заметная активность в исследованиях, направленных на поиск новых материалов и изучение путей и возможностей их применения в медицинских целях. На базе Дорожной клинической больницы (г. Красноярск) *in vitro* нами была изучена проникающая способность магнитных наночастиц (НЧ) ферригидрита в слизистой оболочке, хрящевой и костной тканях носа. Магнитные НЧ были получены в результате культивирования бактерий *Klebsiella oxytoca*. Для создания магнитного поля использовали аппарат «Полус-101». На основании полученных данных установлено, что внешнее магнитное поле приводит к проникновению НЧ в толщу слизистой оболочки, хрящевой и костной тканях носа. Нами была проведена работа по изучению токсичности к клеткам крови исследуемых наночастиц. В качестве цитотоксического теста использовалась реакция хемилюминесценции в нейтрофильных гранулоцитах при воздействии на них магнитными НЧ. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что внешнее магнитное поле позволяет осуществлять направленный транспорт магнитных НЧ ферригидрита в ткани. Используемые наночастицы не обладают токсическими свойствами.

Работа поддержана грантами РФФИ 08-08-00427, 09-04-98038.

## **РАЗРАБОТКА УНИВЕРСАЛЬНОГО ПОДХОДА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВЫХ ФОРМ ВИЧ-1**

Левина А.С.<sup>1</sup>, Пышный Д.В.<sup>1</sup>, Пышная И.А.<sup>1</sup>, Дмитриенко Е.В.<sup>1</sup>, Кабилов М.Р.<sup>1</sup>, Репкова М.Н.<sup>1</sup>, Гашникова Н.М.<sup>2</sup>, Зарытова В.Ф.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор", п. Кольцово, Новосибирская область, Россия.

Levina@niboch.nsc.ru

Цель работы - разработка универсального подхода для одновременного выявления значимых точечных мутаций (в присутствии различных наборов незначимых замен) в гене *pol* ВИЧ-1, определяющих устойчивость вируса к противовирусным препаратам комплексной терапии при лечении ВИЧ-инфекции.

Проведен анализ конкретной области гена *pol* ВИЧ-1 с использованием данных, полученных у 184 пациентов, получавших и не получавших антиретровирусную терапию. Результаты подтверждают, что у ВИЧ, выделенных из крови больных, принимавших различные схемы лечения, образуется множественная лекарственная устойчивость. Для разработки тест-системы на выявление мутаций, приводящих к лекарственной устойчивости к препаратам-ингибиторам протеазы, были выбраны кодоны 32, 46, 50, 54, 82, 84 и 90 в гене *pol*, кодирующем протеазу ВИЧ-1, как наиболее актуальные для выявления в клинической практике. Для выявления однонуклеотидных замен использовали лигирование тандемов олигонуклеотидов (мини-зондов) на матрице анализируемой ДНК на капроновых ДНК-чипах. Разработан компьютерный алгоритм выбора последовательности мини-зондов, обладающих максимальной селективностью при выявлении однонуклеотидных замен. Сконструированы и синтезированы олигонуклеотидные мини-зонды - составные и мостиковые танделы олигонуклеотидов, в которых учтены как значимые, так и незначимые для лекарственной устойчивости однонуклеотидные замены. На модельных ДНК-матрицах, содержащих кодоны, точечные замены в которых приводят к лекарственной устойчивости, показана возможность твердофазного лигирования мини-зондов и продемонстрировано, что вырожденность в структуре ДНК, учтенная в последовательности составных зондов, не препятствует лигированию тандела. Результаты, полученные на первом этапе фундаментальных исследований, являются основой для создания тест-систем для выявления мутантных вариантов вируса иммунодефицита человека первого типа, устойчивых к препаратам антиретровирусной терапии. Работа поддержана грантом РФФИ № 08-04-12041-офи, грантом программы президиума РАН «МКБ».

## **5'-ЛИПОФИЛЬНЫЕ КОНЬЮГАТЫ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ КАК КОМПОНЕНТЫ ТРАНСПОРТНЫХ НАНОКОНСТРУКЦИЙ**

**Мещанинова М.И.**, Иглина А.А., Сериков Р.Н., Венямина А.Г.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск, Россия

mesch@niboch.nsc.ru

Функциональные НК (аптамеры, НК-энзимы, siРНК, антисенс-олигонуклеотиды и др.) являются высокоселективными инструментами молекулярно-биологических исследований, а также потенциальными терапевтическими средствами для лечения вирусных, онкологических и других заболеваний. Перспективным подходом к адресной доставке НК в клетки-мишени является создание мультифункциональных наноконструкций на основе комплексов НК и их конъюгатов с различными наночастицами и органическими молекулами, в том числе с лигандами клеточных рецепторов. Компонентами таких наноконструкций могут служить 5'-липофильные конъюгаты функциональных НК.

Нами разработан общий подход к конструированию таких конъюгатов, основанный на сочетании методов Н-фосфонатной и фосфитамидной химии. Липофильные соединения (холестерин, литохолевая кислота, олеиловый эфир литохолевой кислоты, олеиловый спирт,  $\alpha$ -токоферол), модифицированные введением линкеров на основе аминокислот различной длины, были превращены с высоким выходом в Н-фосфонаты. Строение новых соединений подтверждено методами <sup>1</sup>H-ЯМР, <sup>31</sup>P-ЯМР и ESI-MS. Универсальность подхода была продемонстрирована на примере твердофазного синтеза 5'-конъюгатов данных липофильных соединений с полученными фосфитамидным методом олигодезоксирибонуклеотидами, а также смешанными олиго(2'-О-метилрибо/рибонуклеотидами). Препаративное выделение серий новых 5'-липофильных конъюгатов было проведено с использованием обращенно-фазовой ВЭЖХ в оптимизированных условиях или гель-электрофореза. Структура их подтверждена методом LC-ESI-MS. Показано, что введение 5'-липофильных остатков в олигонуклеотиды практически не изменяет термическую стабильность комплексов. Можно предполагать, что созданные конъюгаты функциональных НК окажутся перспективными компонентами транспортных наноконструкций.

Работа поддержана грантами Программы Президиума РАН "Фундаментальные науки – медицине" (N 21-18), ГК ФАНИ N 02.512.11.2200 и Интеграционным проектом СО РАН N 41.

## **ВЛИЯНИЕ АФЛАТОКСИНА В1 НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ И СТРУКТУРУ ГЕПАТОЦИТОВ КРЫС ПОСЛЕ ЕГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ БЕЗ И НА ФОНЕ НАНОАЛМАЗОВ**

**Могильная О.А.**, Пузырь А.П., Бондарь В.С.  
Институт биофизики СО РАН, Красноярск, Россия  
ol\_mog@mail.ru

Афлатоксины являются вторичными метаболитами широко распространенных плесневых грибов рода *Aspergillus*. Поражение кормов и продуктов питания плесневыми грибами сопровождается появлением афлатоксинов в пище. Наиболее опасным из них является афлатоксин В1 (AfB1). В данной работе рассматривается применение модифицированных наноалмазов (MND) детонационного синтеза в качестве энтеросорбента микотоксинов. В экспериментах *in vivo* исследовано влияние AfB1 на гематологические показатели и состояние клеток печени крыс при его пероральном введении без и в присутствии MND. Результаты показали, что пероральное введение водного раствора AfB1 животным приводит к снижению общего содержания лейкоцитов, в том числе, к значительному снижению количества лимфоцитов, а также к гиперплазии гладкой эндоплазматической сети в гепатоцитах. У животных, потреблявших 0,4 масс.% гидрозоль MND, повышено общее содержание лейкоцитов по сравнению с контрольными животными, потреблявшими воду. Для гепатоцитов характерно накопление лизосом. У животных, потреблявших AfB1 с гидрозолем MND, изменения общего количества лейкоцитов, лимфоцитов и гранулоцитов были менее выражены по сравнению с животными, потреблявшими только AfB1. Для клеток печени характерно накопление различных лизосомальных структур с гетерогенным электронно-плотным содержимым, однако гиперплазии гладкой эндоплазматической сети не выявлено. Таким образом, результаты исследования могут говорить о том, что пероральное введение AfB1 с гидрозолем MND по сравнению с пероральным введением только AfB1 оказывает менее токсичное действие на организм животных. Вероятно, после адсорбции AfB1 на поверхности MND происходит взаимная нейтрализация микотоксина и наночастиц. Это позволяет прогнозировать возможность применения MND как энтеросорбента для связывания и нейтрализации микотоксинов, в частности, AfB1.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 06-04-90234) и Президиума РАН (программа № 27, проект № 64).

# **МУЛЬТИПИРЕНОВЫЕ КОНЬЮГАТЫ ОЛИГО(2'-О-МЕТИЛРИБОНУКЛЕОТИДОВ) КАК ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ БИОНАНОСЕНСОРЫ ДЛЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ДЕТЕКЦИИ РНК**

**Новопашина Д.С., Крашенинина О.А., Венямина А.Г.**

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, Россия  
danov@niboch.nsc.ru

Флуоресцентные олигонуклеотидные зонды получили широкое распространение в молекулярной биологии и фундаментальной медицине для гибридизационной детекции специфических РНК и ДНК мишеней. Несмотря на серьезный прогресс в создании флуоресцентных зондов, до сих пор не созданы зонды, которые удовлетворяли бы всему комплексу необходимых требований. В качестве основы для создания флуоресцентных зондов для детекции протяженных РНК-фрагментов нами были выбраны олиго(2'-О-метилрибонуклеотиды), а в качестве высокоселективной флуоресцентной метки нами был выбран пирен.

С использованием разработанного ранее твердофазного метода 2'-функционализации олигонуклеотидов [1] получена серия мультипиренильных конъюгатов олиго(2'-О-метилрибонуклеотидов), комплементарных участку 190-звенного 5'-концевого фрагмента мРНК MDR-1 (нуклеотиды 113-137). Конъюгаты содержали один или два 2'-биспиренилметилфосфодиамидных производных уридина. Множественное введение биспиренильных группировок по 2'-положениям нуклеозидов позволяет существенно повысить чувствительность флуоресцентных зондов, при этом 5'- и 3'- гидроксилы остаются доступными для энзиматических реакций, дополнительных химических модификаций и иммобилизации. Изучены флуоресцентные свойства синтезированных зондов и их дуплексов с 25-звенным фрагментом РНК и его ДНК-аналогом.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что созданные на основе олиго(2'-О-метилрибонуклеотидов) флуоресцентные 2'-пиренильные конъюгаты являются перспективными бионаносенсорами для детекции протяженных молекул РНК. С использованием предложенных в работе зондов планируется разработать процедуру гомогенного количественного анализа мРНК в суммарной клеточной РНК, в частности мРНК гена множественной лекарственной устойчивости MDR-1.

Работа поддержана грантом РФФИ (№ 08-04-01634-а) и ГК ФАНИ № 02.522.12.2005.

1. Novopashina D.S. et al. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids. 2005. V.24. P.729-734.

## **ТАНДЕМЫ БИСПИРЕНИЛЬНЫХ КОНЬЮГАТОВ ОЛИГО(2'-О-МЕТИЛРИБОНУКЛЕОТИДОВ) КАК ЭФФЕКТИВНЫЕ БИОНАНОСЕНСОРЫ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ SNP**

**Новопашина Д.С.,** Холодарь С.А., Воронина Е.Н., Филиппенко М.Л., Ломзов А.А., Веняминова А.Г.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

danov@niboch.nsc.ru

Одной из ключевых проблем молекулярной биологии и фундаментальной медицины является разработка методов эффективной и селективной детекции специфических последовательностей ДНК и РНК. Возможность такой детекции *in vitro* и *in vivo* открывает путь к созданию прецизионных инструментов исследований структуры и взаимодействий нуклеиновых кислот, их локализации, мобильности и функций в живых клетках, а также диагностических зондов для быстрой и достоверной диагностики генетических нарушений и инфекций различной этиологии. Задачей данной работы была разработка нового подхода к созданию флуоресцентных проб, обладающих повышенной чувствительностью, специфичностью и стабильностью в биологических системах для селективной детекции НК и определения мутаций в них. Были созданы новые флуоресцентные зонды, представляющие собой тандемы 5'- и 3'-биспиренильных конъюгатов олиго(2'-О-метилрибонуклеотидов) и изучен их потенциал как новых бионаносенсоров для молекулярно-биологических исследований и генетической диагностики.

Исследование проведено на примере возможности детекции полиморфизма С677Т в гене метилентетрагидрофолатредуктазы (МНТФР) с использованием предложенных зондов. Предварительно продемонстрирована их химическая стабильность, а также устойчивость к действию нуклеаз сыворотки. Исследована термическая стабильность, а также флуоресцентные свойства созданных тандемных зондов. Выявлено влияние структуры линкеров между пиренильным остатком и олигонуклеотидом, количества пиренильных остатков на стыке тандема, наличия 3'-“инвертированного” тимидина и положения мисматча на изменение спектров флуоресценции дуплексов зондов с ДНК мишенями.

Разработанные бионаносенсоры были использованы для детекции полиморфизма С677Т непосредственно в амплификационной смеси.

Работа поддержана грантом РФФИ (№ 08-04-01634-а) и ГК ФАНИ № 02.522.12.2005.

## **СИНТЕТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ БИОСИЛИФИКАЦИИ: КОНДЕНСАЦИЯ ОРГАНО-КРЕМНИСТЫХ НАНОЧАСТИЦ**

**Пальшин В.А.**, Даниловцева Е.Н., Зелинский С.Н., Анненков В.В.  
Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия  
Acrom@mail.ru

В настоящее время известно множество видов водных организмов, способных синтезировать сложные кремнеземные конструкции (диатомовые водоросли, губки). Механизм образования биокремнезема не установлен, но его исследование привлекает специалистов из разных областей, в том числе нанотехнологов. Установлено, что формирование кремнистых структур происходит с участием олигомерных полипропиламинов, белковых молекул с боковыми полиаминными цепями (силафины) и фосфорилированных белков (силацидины). Биохимическая роль этих соединений не известна, что связано, во многом, с их недоступностью в количествах, достаточных для исследования химических свойств и силифицирующей активности.

В ЛИН СО РАН получен ряд олигомерных и полимерных аналогов агентов биосилификации. Показано, что синтетические модели силафинов (полимерные амины, аминокислотные и аминокислотные полиамфолиты) способны катализировать конденсацию кремниевой кислоты с образованием растворимых композитных наночастиц, аналогичных везикулам транспорта кремния диатомей. В данной работе рассмотрены процессы дестабилизации этих наночастиц путем взаимодействия с противоположно заряженными частицами (полимерами, органо-кремнистыми наночастицами). Определены условия, приводящие к дальнейшей конденсации олигосиликатов и формированию кремнеземных структур различных морфологий. Полученные результаты представляют интерес для понимания молекулярных механизмов биосилификации и разработки новых методов получения кремнистых материалов, структурированных на нано- и микроуровне.

## **ЧАСТИЦЫ НАНОАЛМАЗА ДЕТОНАЦИОННОГО СИНТЕЗА ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ**

**Пуртов К.В.**, Петунин А.И., Пузырь А.П., Бондарь В.С.

Институт биофизики СО РАН, Красноярск, Россия

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

Обсуждается возможность создания средств адресной доставки лекарственных препаратов к биологическим мишеням *in vivo* на основе наноалмазов и аффинных биомолекул.

В последние годы много внимания уделяется изучению возможности применения различных микро- и нано- объектов для создания систем избирательной доставки различных лекарственных веществ к биологическим мишеням. Такие исследования проводят с использованием липосом, наночастиц золота и других металлов, нанотрубок, различных полимеров. Очевидно, что создаваемая система адресной доставки должна содержать лиганд, обладающий высокой избирательностью к той биологической мишени, куда осуществляется доставка требуемого лекарственного вещества. При создании систем адресной доставки в качестве аффинных лигандов достаточно часто используют антитела.

Для создания систем адресной доставки веществ интерес могут представлять полученные нами ранее модифицированные наноалмазы детонационного синтеза, обладающие высокой коллоидной устойчивостью в дисперсионных средах. В ряде предыдущих работ мы показали, что эти наноалмазы: хорошо адсорбируют различные биомолекулы; позволяют получать стерильные гидрозолы и применять их для всех видов инъекций, включая внутривенные; обладают высокой биосовместимостью, о чем свидетельствуют результаты исследований на животных *in vivo*.

В работе показана возможность получения стабильных комплексов наноалмазов с иммуноглобулинами, мечеными J125. Показана высокая седиментационная стабильность полученного комплекса в сыворотке крови. Получены комплексы наноалмазов, несущие на поверхности специфические антитела и нейтральный белок BSAJ125 в качестве метки. В экспериментах *in vitro* показана иммунная специфичность полученного комплекса. Исследуется *in vitro* распределение иммунонейтрального комплекса наноалмаз-BSAJ125 в цельной крови.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Президиума РАН (программа №27, проект №64).



## СОЗДАНИЕ АНТИСЕНС-НАНОКОМПОЗИТОВ, ПРОНИКАЮЩИХ В КЛЕТКИ И СПОСОБНЫХ ДЕСТРУКТИРИРОВАТЬ НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

**Репкова М.Н.**<sup>1</sup>, Левина А.С.<sup>1</sup>, Павлова А.С.<sup>1</sup>, Шикина Н.В.<sup>2</sup>, Исмагилов З.Р.<sup>2</sup>, Балахнин С.М.<sup>3</sup>, Байбородин С.И.<sup>4</sup>, Зарытова В.Ф.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор", п. Кольцово, Россия

<sup>4</sup>Новосибирский Государственный Университет, Новосибирск, Россия  
repk@niboch.nsc.ru

Целью данной работы является создание антисенс-наноконструкций, состоящих из наночастиц, способных проникать в клетки, реакционноспособных групп, способных осуществлять прямые разрывы НК, и олигонуклеотидов, направленных на определенные нуклеиновые кислоты.

В качестве наночастиц использовали диоксид титана ( $TiO_2$ ), а в качестве реакционной группы - противораковый гликопептидный антибиотик блеомицин А5 (Blm), который способен деструктурировать одно- и двцепочечные ДНК, с образованием прямых разрывов и щелочеллабильных сайтов.

Впервые разработан подход к созданию наноконструкций  $TiO_2$ -Blm, в состав которых входят наночастицы и антибиотик блеомицин. Показано, что антибиотик Blm в составе полученных конъюгатов  $TiO_2$ -Blm сохраняет свою способность деструктурировать ДНК с образованием прямых разрывов и щелочеллабильных сайтов. Осуществлен синтез ряда олигонуклеотидов, содержащих реакционноспособный остаток блеомицина (Blm-oligo) и способных сайтспецифично деструктурировать ДНК. Полученные блеомицин-содержащие олигонуклеотиды Blm-oligo были иммобилизованы на наночастицы диоксида титана с образованием  $TiO_2$ -Blm-oligo. Кроме того, за счет электростатического взаимодействия положительно заряженных аминогрупп полилизина в наноконструкте  $TiO_2$ -PL и отрицательно заряженных фосфатных групп олигонуклеотида в Blm-oligo получена наноконструкция  $TiO_2$ -PL•Blm-oligo. Исследовано взаимодействие положительно заряженных аминогрупп полилизина в наноконструкте  $TiO_2$ -PL и отрицательно заряженных фосфатных групп олигонуклеотида. Таким образом, впервые получены наноконструкты, в состав которых входят наночастицы  $TiO_2$ , олигодезоксинуклеотид и остаток антибиотика блеомицина А5, способный деструктурировать ДНК. Показано, что сконструированные наноконструкты проникают в эукариотические клетки.

Работа поддержана грантом РФФИ №08-04-01045-а; Интеграционным грантом СО РАН № 61; Программой развития научного потенциала высшей школы (регистрационный № 2.1.1/5642).

## **ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫЙ ГИБРИДИЗАЦИОННЫЙ МИКРОЧИП ДЛЯ ТИПИРОВАНИЯ ВИРУСА ГРИППА А**

**Рябинин В.А.**, Костина Е.В., Максакова Г.А., Синяков А.Н.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск, Россия

ryabinin@niboch.nsc.ru

Создание миниатюрных устройств, способных поводить типирование патогенов является важной ступенью в процессе диагностирования, проведения профилактических мероприятий и лечения заболевания. Одним из направлений в этой области являются гибридационные олигонуклеотидные микрочипы, позволяющие получать большой объем информации о структуре ДНК определяемого патогена.

В настоящей работе предложен подход по отбору олигонуклеотидных зондов, позволяющих определять серотип поверхностных белков гриппа А – гемагглютинина и нейраминидазы. При расчете зондов использовались около 10000 последовательностей гена гемагглютинина и примерно 7000 последовательностей гена нейраминидазы, взятых из базы данных GeneBank. Отбор олигонуклеотидных зондов разбивается на два этапа. Первый включает в себя отбор специфичных аминокислотных последовательностей, характерных для белка определяемого субтипа. Такой вариант отбора представляется нам принципиально важным, так как именно структура белка определяет антигенные свойства микроорганизма. На второй стадии проводится расчет олигонуклеотидных зондов исходя из структуры пептидов. Для печати микрочипа нами были синтезированы олигонуклеотиды, несущие на 3'-конце аминокислотный линкер, которые иммобилизовали на поверхности стеклянного слайда, модифицированного фенилдиизотиоцианатом. Общее количество использованных зондов составило примерно 200 для нейраминидазы и около 350 для гемагглютинина.

При проведении анализа первоначально нарабатывалась к-ДНК с использованием в качестве матрицы РНК вируса гриппа А. Далее получали ампликон практически полного гена нейраминидазы или гемагглютинина с одновременным введением флуоресцентной метки (Cy3 или Cy5). На финальной стадии проводилась гибридация полученного ампликона на микрочипе и анализ картины флуоресценции. По предварительным данным предложенный метод позволяет проводить типирование гриппа А с достаточно высокой степенью достоверности.

## ИЗУЧЕНИЕ РЕАКЦИИ РАДИКАЛОВ УБИХИНОНА С КИСЛОРОДОМ ЭПР МЕТОДОМ

Самойлова Р.И.<sup>1</sup>, Крофтс А.Р.<sup>2</sup>, Диканов С.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт Химической Кинетики и Горения СО РАН, Новосибирск

<sup>2</sup>Факультет Биохимии, Университет штата Иллинойс, Урбана, IL 61801, США

<sup>3</sup>Факультет Ветеринарии и Клинической медицины, Университет штата Иллинойс, Урбана, IL 61801, США

samoilov@ns.kinetics.nsc.ru

В последнее время значительное количество исследований было посвящено изучению интермедиатов хинонов, возникающих в процессах окисления или восстановления ферментов дыхательной цепи, таких как bc<sub>1</sub> комплекс из *Rhodobacter sphaeroides* и bо3 хинол оксидазы из *Eescherichia coli* с целью выяснения их роли при функционировании этих ферментов в клетках в норме и при патологии.

Помимо важной роли хинона как кофактора в прцессе переноса электрона и протона в дыхательных цепях, появление радикалов может быть связано с активацией антиоксидантных и прооксидантных свойств хинонов, находящихся в липидной части мембран, поэтому увеличение или снижение концентрации радикалов хинонов отражает нарушение в работе ферментов.

Недавно опубликованы результаты по исследованию двухстадийной реакции 1,4-семихинонного радикала с кислородом, которая приводит к образованию перекисного аддукта, стабилизирующегося внутримолекулярной водородной связью.

В данной работе методом ЭПР проведено изучение модельной реакции образования парамагнитного перекисного аддукта в реакциях гомологов убихинона (UQ<sub>o</sub>-UQ<sub>10</sub>) с кислородом. Взаимодействие с окружением и распределение спиновой плотности в радикале изучалось методом импульсной ЭПР спектроскопии с использованием изотопных растворителей и дейтерозамещенных хинонов.

## ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ РЯДА КАТИОННЫХ ЛИПИДОВ, СПОСОБНЫХ ДОСТАВЛЯТЬ НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ В КЛЕТКИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Сериков Р.Н.<sup>1</sup>, Рапопорт Д.А.<sup>1</sup>, Медведева Д.А.<sup>1</sup>, Маслов М.А.<sup>2</sup>, Серебренникова Г.А.<sup>2</sup>, Щеглов Д.В.<sup>3</sup>, Латышев А.В.<sup>3</sup>, Зенкова М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>3</sup>Институт физики полупроводников СО РАН, Новосибирск, Россия  
serikov@niboch.nsc.ru

Среди невирусных систем доставки нуклеиновых кислот (НК) в клетки широкое применение получили катионные соединения, такие как полиэтиленимины и различные катионные липиды. При взаимодействии этих соединений с ДНК или РНК в водных растворах самопроизвольно происходит компактизация НК с образованием НК-содержащих наночастиц. Так как при формировании наночастиц происходит нейтрализация отрицательного заряда НК, использование комплексов нуклеиновых кислот с катионными липидами или поликатионными веществами значительно повышает эффективность трансфекции и предотвращает их деградацию.

Нами исследованы трансфецирующие свойства катионных липидов различной структуры, содержащих остатки холестерина, галактозы и глицерина. Изучена эффективность доставки при помощи этих липидов олигонуклеотидов, siРНК и плазмидной ДНК в клетки млекопитающих. В ходе исследования было показано, что самыми эффективными доставщиками оказались липиды на основе галактозы и глицерина. Оказалось, что более высокие константы связывания катионных липидов с siРНК коррелируют с высокой эффективностью доставки именно этого типа нуклеиновых кислот. Размер образуемых при трансфекции наночастиц был определён при помощи атомно-силовой сканирующей микроскопии. Было выяснено, что комплексы плазмидной ДНК с эффективными доставщиками имеют форму компактных гранул с размером порядка от 40 до 80 нм, в то время как комплексы катионного липида, обладающего низкой трансфецирующей способностью, с ДНК имеют сложную форму с характеристическим размером 200-500 нм.

Полученные данные показывают, что новые катионные липиды имеют ряд преимуществ перед липофектаминам, такие как гораздо более низкая токсичность и способность доставлять нуклеиновые кислоты в неоптимизированной для доставки клеточной среде.

Данная работа поддержана грантами РФФИ 08-04-00753-а, НШ-3689.2008.4, Молекулярная и клеточная биология.

## **ТЕЛОМЕРАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В ОПУХОЛЕВЫХ И ПРЕДОПУХОЛЕВЫХ ПОРАЖЕНИЯХ ШЕЙКИ МАТКИ КАК МАРКЕР НЕОПЛАСТИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ**

**Скворцов Д.А.<sup>1</sup>, Зверева М.Э.<sup>1</sup>, Рубцова М.П.<sup>1</sup>, Павлова Л.С.<sup>2</sup>, Короленкова Л.П.<sup>2</sup>, Донцова О.А.<sup>1</sup>, Киселев Ф.Л.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Химический факультет Московского Государственного Университета им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>2</sup>Российский Онкологический Научный Центр им. Н.Н. Блохина, Москва, Россия

skvorrtd@mail.ru

Теломераза - рибонуклеопротеиновый комплекс, ядро которого составляют теломеразная РНК и белок теломеразной обратной транскриптазы. В 80 - 90% опухолевых клеток теломераза активна и является основным инструментом поддержания длины теломер. Следует отметить, что теломеразных комплексов всего несколько десятков молекул на клетку, что затрудняет использование определения ее активности в качестве клинического метода диагностики. Задачей настоящей работы было оценить потенциальную пригодность теломеразного теста в ранней диагностике опухолей шейки матки, вызываемых вирусами папиллом.

В данной работе для определения теломеразной активности был использован так называемый TRAP-тест, основанный на удлинении теломеразой олигонуклеотида (субстрата теломеразы) теломерными повторами с последующей амплификацией продуктов реакции методом ПЦР.

Теломеразная активность была обнаружена во всех протестированных образцах злокачественных опухолей и не детектировалась в образцах нормального эпителия и миом (доброкачественных опухолей). Эти данные коррелируют с присутствием в исследованных опухолевых образцах вируса папилломы человека 16 типа. Различий между метастазирующими и неметастазирующими опухолями выявлено не было. Теломеразная активность детектировалась на всех стадиях прогрессии злокачественных опухолей. Среди протестированных образцов предопухолевых поражений шейки матки - цервикальных интраэпителиальных неоплазий различных стадий, активность теломеразы детектировалась в 61% случаев. В большинстве случаев предопухолевых поражений активность теломеразы слабее, чем в опухолевых образцах. Таким образом, теломераза активируется еще на стадии предопухолевого заболевания и может служить маркером неблагоприятного дальнейшего развития заболевания.

## **ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ АНАЛОГОВ МАЛЫХ ЯДРЫШКОВЫХ С/D БОКС РНК НА СПЛАЙСИНГ ПРЕ-мРНК И 2'-О-МЕТИЛИРОВАНИЕ рРНК**

**Степанов Г.А., Семенов Д.В., Кулигина Е.В., Коваль О.А., Рихтер В.А.**

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск, Россия

semenov@niboch.nsc.ru

Известно, что в клетках эукариот малые ядрышковые РНК играют важную роль в пост-транскрипционном процессинге стабильных клеточных рРНК, мРНК, малых ядерных РНК, и поэтому они являются перспективной основой для создания ген-направленных терапевтических средств.

Целью данной работы является исследование влияния аналогов С/D бокс РНК на сплайсинг пре-мРНК в культуре клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7. Были сконструировано 5 аналогов U24 С/D бокс РНК человека, направляющих 2'-О-метилирование нуклеотидов пре-мРНК белка теплового шока hsc70, критичных для сплайсинга второго экзона: аденозина точки разветвления сплайсинга; донорного и акцепторного сайтов сплайсинга; первого и последнего нуклеотидов интрона. Сконструированные РНК были получены с помощью транскрипции *in vitro* РНК-полимеразой фага Т7 синтетических ДНК-матриц. Было установлено, что трансфекция клеток MCF-7 аналогами U24 С/D бокс РНК, сопровождаемая тепловым шоком, приводит к частичному нарушению сплайсинга и исключению второго экзона пре-мРНК-мишени.

Были сконструировано и получено 5 аналогов U24 РНК, направляющих модификацию нуклеотидов рРНК человека, потенциально чувствительных к *de novo* 2'-О-метилированию. Установлено, что трансфекция клеток MCF-7 полученными аналогами индуцирует 2'-О-метилирование заданных нуклеотидов рРНК-мишеней. При этом аналог С/D бокс РНК, направляющий 2'-О-метилирование U4502 28S рРНК, снижал жизнеспособность клеток человека на 50 % (МТТ-тест).

Таким образом, нами показано, что трансфекция клеток человека синтетическими аналогами С/D бокс РНК влияет на пост-транскрипционный процессинг заранее заданных пре-мРНК- и рРНК-мишеней.

## **АПТАМЕРЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИНСТРУМЕНТЫ БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ДИАГНОСТИКИ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА**

**Тиванова А.С.,** Фокина А.А., Безуглова А.М., Невинский Г.А.,  
Веньямина А.Г.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск, Россия

fokina@niboch.nsc.ru

Применение аптамеров для разработки подходов к лечению и диагностике различных заболеваний является одним из актуальных и приоритетных направлений бионанотехнологии (Levy-Nissenbaum et al. 2008. Cell press. V.26. P. 442-449).

Рассеянный склероз (РС) – тяжелое хроническое прогрессирующее аутоиммунное заболевание центральной нервной системы, ассоциированное с появлением в организме большого аутоантител, разрушающих миелиновую оболочку нервных волокон.

В данной работе предложен новый подход к ингибированию патологических процессов, протекающих при рассеянном склерозе. Он основан на использовании устойчивых в биологических средах 2'-Ф-пиримидинсодержащих РНК-аптамеров для связывания с аутоантителами, которые продуцируются организмом при РС.

Разработана процедура SELEX для отбора таких РНК-аптамеров. В качестве мишени использован пул поликлональных аутоантител, выделенных из 10 образцов сыворотки крови пациентов с рассеянным склерозом для обеспечения более высокой вероятности получения универсальных РНК-аптамеров, способных взаимодействовать с аутоантителами большинства больных РС. В процессе SELEX проводилось связывание 2'-Ф-пиримидинсодержащей РНК-библиотеки в условиях, близких к физиологическим, с пулом поликлональных аутоантител, иммобилизованных на стенках ПЦР-пробирки. С использованием новой разработанной процедуры SELEX проведено от 6 до 10 раундов отбора РНК-аптамеров.

Выделение конкретных последовательностей РНК-аптамеров и изучение их способности связываться с аутоантителами, а также подавлять их демиелинизирующую активность даст возможность использовать данные РНК-аптамеры в качестве основы при создании потенциальных терапевтических препаратов для лечения и диагностики рассеянного склероза.

Работа поддержана Грантом мэрии г. Новосибирска (№ 29-08, 2008-2009 гг.).

## **КОНСТРУИРОВАНИЕ НАНОКОМПЗИТНОГО МЕМБРАНОТРОПНОГО ГЕТЕРОКОМПЛЕКСА ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ЦЕЛЕВОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА**

Джиоев Ю.П.<sup>1</sup>, Сухов Б.Г.<sup>2</sup>, Верховина М.М.<sup>1</sup>, Демина Т.В.<sup>1</sup>, Александрова Г.П.<sup>2</sup>, Грищенко Л.А.<sup>2</sup>, Ткачев С.Е.<sup>3</sup>, Костыро Я.А.<sup>2</sup>, Мартынович Е.Ф.<sup>4</sup>, Козлова И.В.<sup>1</sup>, Зилов С.А.<sup>4</sup>, Танцырев А.П.<sup>2</sup>, Старченко А.А.<sup>4</sup>, Ушакова И.В.<sup>2</sup>, Дорощенко Е.К.<sup>1</sup>, Лисак О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт эпидемиологии и микробиологии ГУ НЦМЭ ВСНЦ СО РАМН, Иркутск, Россия

<sup>2</sup>Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, Иркутск, Россия

<sup>3</sup>ИХБФМ СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>4</sup>Иркутский филиал Института лазерной физики СО РАН, Иркутск, Россия  
tkachev@niboch.nsc.ru

В данной работе разработан общий подход к синтезу гибридных нанобиоконкомпозитов, основанный на эффекте самоорганизации неорганических полимерных структур, включающий регуляцию размеров гибридных фрагментов на наноразмерном уровне за счет специфической адсорбции макромолекул биополимеров на растущем в результате стимулированной агрегации из водного раствора неорганическом наноядре. Этот эффект приводит к инкапсулированию наночастиц в объемный биополимерный экран, ограничивающий дальнейший процесс агрегации на наноуровне.

Разработана технология получения природного полимера – арабиногалактана, который в данной работе играет роль биополимерной матрицы, адсорбирующимся и обволакивающим наночастицу, создавая комплекс нанобиоконкомпозита. Арабиногалактан обладает такими свойствами как биосовместимость, сродство к асиалогликопротеиновым рецепторам, мембранотропностью и очень низкой токсигенностью для организмов. На его основе проводятся исследования нанопродукта внутриклеточного антивирусного действия, в своей структурной основе представляющего собой наноконкомпозитную гетероконкомплексную систему, состоящей из биополимерной матрицы и олигонуклеотидного компонента.

Исследован полный геном вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) и выявлены участки, характеризующие его генотипические и репродуктивные особенности. Создана панель олигонуклеотидных зондов, комплементарных этим участкам, их специфичность апробирована на выборке более 300 штаммов ВКЭ. Получены первые практические результаты токсикогенных особенностей мембранотропных наноконкомпозитных материалов на тканевой культуре клеток, чувствительных к ВКЭ. Проводятся исследования физико-химических характеристик компонентов нанотранспортного гетероконкомплекса на лазерном конфокальном микроскопе.



## NUCLEOSEP-НОВЫЙ НАНООРГАНИЗОВАННЫЙ СОРБЕНТ ДЛЯ ВЭЖХ ОЧИСТКИ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ

Фоменко В.В.<sup>1</sup>, Каргаполов Ю.С.<sup>1</sup>, Азарова И.Н.<sup>2</sup>, Масыго Н.А.<sup>3</sup>, Барам Г.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ООО 'Биоаванта', Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>ЗАО Институт хроматографии "ЭкоНова", Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>Кафедра аналитической химии НГУ, Новосибирск, Россия

vladislav@ngs.ru

Проблема получения высокочистых олигонуклеотидов особенно остро встала в связи с необходимостью применять данный класс соединений не только в PCR диагностике, но и для создания регулярных наноорганизованных структур. Наиболее производительным методом очистки олигонуклеотидов является хроматография, но «обычные» обращённо-фазовые сорбенты зачастую не позволяют качественно произвести разделение, что особенно верно для относительно протяжённых олигонуклеотидов. Нами был создан новый объёмно пористый поверхностно-наноорганизованный фторированный сорбент-NucleoSep, который позволяет успешно решать поставленную задачу. Высокая однородность сайтов распознавания на поверхности с одной стороны и олео-и гидрофобность фторированных поверхностно иммобилизованных соединений позволяет добиться не только высокой эффективности разделения, но и, что важно для препаративных выделений, получать целевое вещество за меньшее время и в меньшем объёме элюента.

В качестве примера приведём сравнительную хроматографию олигодезоксинуклеотида

АСТТАСГГТТГГАААГТГСАТТАААТААСАТСТГГАТССТТААААТСАА  
АГСТАААСТТАСГГТТГГГТГСАТТС (75-мер):

Элюент А–0.01 ТЭА-ацетат (рН 4.45), Элюент Б–MeCN

Градиент:50 мин от 2 до 17% Б; 14 мин 100%Б

Скорость потока 50 мкл/мин, Температура 40С

Объем пробы 5 мкл на колонках 2\*75 мм

Образцом сравнения являлся Диасфер 160-6-С18.

В результате проведённой очистки целевого продукта с временем удерживания 29 минут удаётся отделить посторонние примеси нуклеиновой природы, которые составляют порядка 50% «суммарной оптической плотности» на длине волны 260 нм и выходят с колонки как до пика основного вещества (~5%), так и в двух пиках после него (в сумме ~45%). На колонке сравнения регистрируется широкий пик с перегибом во фронте с временем удерживания 46 минут и не удаётся отделить посторонние продукты. Рехроматография полученного продукта на сорбенте NucleoSep, равно как и отделённых примесей исключила возможные артефакты – времена удерживания соединений воспроизводятся.

## **АНАЛИЗ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПЕПТИДА - ЛАКТАПТИНА И ЕГО РЕКОМБИНАНТНЫХ АНАЛОГОВ НА КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА**

**Фомин А.С., Семенов Д.В., Коваль О.А., Кулигина Е.В., Бабкина И.Н., Тикунова Н.В., Матвеева В.А., Матвеев Л.Э., Рихтер В.А.**

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск, Россия

fomin\_aleksandr@mail.ru

Ранее мы показали, что в человеческом молоке присутствуют белковые факторы способные вызывать апоптотическую гибель клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7. С помощью ряда хроматографических подходов из молока был выделен, охарактеризован и идентифицирован один из таких белковых факторов - протеолитический фрагмент каппа-казеина человека с молекулярной массой 8 кДа (лактаптин) [1].

В данной работе сконструированы плазмиды, кодирующие рекомбинантные аналоги лактаптина (фрагменты каппа-казеина человека: RL1 с 66-134 и RL2 с 23-134 аминокислотных остатка), созданы E.coli продуценты рекомбинантных аналогов этого белка. К рекомбинантному аналогу лактаптина RL2 получены моноклональные антитела, с помощью которых из сыворотки молока человека был выделен и очищен природный лактаптин. Проведен анализ действия лактаптина и его аналогов на клетки MCF-7, A549 и MSC жировой ткани человека.

Установлено, что аналог лактаптина RL1 не оказывал существенного влияния на жизнеспособность клеток аденокарциномы человека MCF-7. В то же время инкубация клеток MCF-7 и A549 в присутствии фрагмента каппа-казеина RL2 приводила к существенному снижению их жизнеспособности (на 62% и 45% соответственно, 3 суток инкубации). Жизнеспособность мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани человека (MSC) при инкубации с RL2 не отличалась от контроля. Снижение жизнеспособности под действием фрагмента RL2 сопровождалось морфологическими изменениями MCF-7, характерными для апоптотической гибели клеток. Анализ субпопуляций MCF-7 проточной цитометрией показал, что ~ 30% клеток погибали по механизму апоптоза при инкубации в присутствии RL2, в течении 72 ч.

1. Некипелая В.В., Семенов Д.В., Потапенко М.О., Кулигина Е.В., Кит Ю.Я., Романова И.В., Рихтер В.А. Доклады Академии Наук. 2008. Т. 419. С. 268-271.

## **ПРИМЕНЕНИЕ ПСЕВДОЛЕНТИВИРУСОВ ДЛЯ ПОИСКА И ИЗУЧЕНИЯ АНТИРЕТРОВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ**

**Чересиз С.В.<sup>1,4</sup>, Семенова Е.<sup>2,4</sup>, Григорьев И.<sup>4</sup>, Пустыльняк В.О.<sup>4</sup>, Власов В.В.<sup>3</sup>, Покровский А.Г.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Институт терапии СО РАМН, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>4</sup>Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

cheresiz@gmail.com

Псевдотипированные лентивирусы — это получаемые в системе *in vitro* вирусные препараты, в физиологическом плане практически неотличимые от природных инфекционных вирионов ВИЧ-1. При инфицировании ими клеток, они воспроизводят ряд стадий репликационного цикла ВИЧ-1, от входа в клетку и обратной транскрипции до интеграции провируса и экспрессии интегрированного трансгена. На этом репликационный цикл псевдолентивируса прерывается, поскольку геномная РНК псевдовirusа содержит лишь регуляторные последовательности ВИЧ и репортерный ген, но не гены вирусных белков. Это свойство псевдолентивирусов делает их биологически безопасным инструментом для изучения антиретровирусных соединений — ингибиторов входа/слияния мембран, обратной транскриптазы, интегразы и др.

Целью работы была разработка и применение клеточной тест-системы с использованием псевдотипированных лентивирусных частиц для изучения антиретровирусных соединений.

Псевдовirusы получали методом транзиторной трансфекции вирусных последовательностей в составе 3 плазмид — векторной, упаковочной и экспрессирующей поверхностный антиген - в высокотрансфектабельные клетки линии 293Т. Получаемые псевдовirusы имеют капсид ВИЧ-1, поверхностный белок слияния G вируса везикулярного стоматита и геномную РНК, кодирующую репортерный ген eGFP. Инфицированные ими клетки экспрессируют eGFP в результате интеграции в их хромосомы провируса, содержащего репортерный ген. Обработка клеток-мишеней ингибиторами обратной транскриптазы или интегразы препятствует ретротранскрипции вирусной РНК или интеграции провируса, снижая количество GFP-экспрессирующих клеток. Ингибирующий эффект исследуемых соединений оценивали с использованием метода флуоресцентной микроскопии, количественный анализ числа GFP-экспрессирующих клеток проводился методом FACS.

С помощью описанной системы определены количественные характеристики ингибирования ВИЧ-1 для нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы - AZT и его производных.

## **ИТЕРАТИВНЫЙ АНАЛИЗ МАСС-СПЕКТРОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ ДЕТЕРМИНИРОВАННОГО ПОЛИМОРФИЗМА БЕЛКОВ**

**Чернобровкин А.Л.**, Лисица А.В., Арчаков А.И.

Институт биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича РАМН, Москва, Россия

chernobrovkin@gmail.com

Протеотипирование – новое направление в протеомике, целью которого является определение генетически-детерминированного полиморфизма на протеомном уровне. Совокупность пост-трансляционных модификаций, сплайс-вариантов и аминокислотных замен образует протеотип.

Часть однонуклеотидных замен являются несинонимичными, т.е. замена нуклеотида должна приводить к соответствующему изменению кодируемого триплетом аминокислотного остатка в белке. В результате трансляции индивидуальных сочетаний синтезируются практически идентичные белки, различающиеся всего несколькими (а чаще - только одной) остатками. Определить аналитическими методами микрогетерогенные различия в структуре белков сложно, даже с использованием современных высокочувствительных методов.

В данной работе для анализа масс-спектрометрических данных применялся итеративный алгоритм, суть которого заключается в том, что масс-спектрометрическая идентификация выполняется последовательно два раза. Причем в первой итерации для идентификации используется аннотированная база данных белковых последовательностях, а на второй итерации база данных обогащается последовательностями идентифицированных ранее белков, содержащими генетически-детерминированные аминокислотные замены.

Предложенный метод был применен для анализа масс-спектров образцов печени человека. Проанализировав 4 масс-спектра был обнаружен аллельный вариант гемоглобина, известный в литературе как HBD “Flatbush”.

## **НАНОКОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА, СОДЕРЖАЩИЕ ДЕЗОКСИНУКЛЕОЗИДТРИФОСФАТЫ: СИНТЕЗ И СУБСТРАТНЫЕ СВОЙСТВА**

**Шацкая Н.В.<sup>1</sup>**, Сильников В.Н.<sup>1</sup>, Васильева С.В.<sup>1</sup>, Левина А.С.<sup>1</sup>, Репкова М.Н.<sup>1</sup>, Исмагилов З.Р.<sup>2</sup>, Шикина Н.В.<sup>2</sup>, Зарытова В.Ф.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Институт катализа им. Г.К.Борескова, СО РАН, Новосибирск, Россия  
shatskaya@googlegmail.com

Создание противовирусных препаратов на основе трифосфатов нуклеозидных аналогов, способных проникать в клетки является актуальной и практически значимой проблемой. Одним из вариантов решения этой проблемы может быть использование наноконпозитов, состоящих из наночастиц диоксида титана ( $\text{TiO}_2$ ) с иммобилизованными трифосфатами нуклеозидных аналогов. Известно, что наночастицы диоксида титана размером 2-5 нм способны проникать через клеточные мембраны и могут служить «транспортным средством» для доставки иммобилизованных на них лигандов в эукариотические клетки. Целью данной работы является исследование субстратных свойств нуклеозидтрифосфатов (dNTP), иммобилизованных на  $\text{TiO}_2$ -наночастицы, в реакциях, катализируемых ДНК-полимеразами. Нуклеозидтрифосфаты присоединяли к наночастицам, содержащим иммобилизованные остатки полилизина. В полимеразной реакции использовали наноконпозиты  $\text{TiO}_2$ -PL-dNTP, а также  $\text{TiO}_2$ -PL(As)-dNTP с блокированными аминогруппами. Было показано, что иммобилизованные dNTP в составе наноконпозитов являются субстратами ДНК-полимеразы. Кроме того, было исследовано влияние  $\text{TiO}_2$ -наночастиц, содержащих или не содержащих остатки полилизина, на реакцию элонгирования.

Работа поддержана Интеграционным грантом СО РАН № 61; Программой развития научного потенциала высшей школы (регистрационный № 2.1.1/5642).

## ОТБОР ДНК-АПТАМЕРОВ *IN VITRO* В ПРОЦЕССЕ НУКЛЕОЛИТИЧЕСКОЙ ДЕГРАДАЦИИ ОЛИГОНУКЛЕОТИДНОЙ БИБЛИОТЕКИ

Шевченко И.В.<sup>1,2</sup>, Воробьев П.Е.<sup>1</sup>, Ходырева С.Н.<sup>1</sup>, Лаврик О.И.<sup>1</sup>, Пышный Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Новосибирский государственный университет, Россия

Аптамеры (от лат. *aptus* – подходящий, прилаженный) представляют собой фрагменты РНК или ДНК, пептиды, способные к специфическому связыванию с молекулами-мишенями. К настоящему времени разработан целый ряд подходов к селекции функциональных НК-аптамеров путем направленного отбора мишень-специфичных последовательностей из комбинаторных библиотек олигонуклеотидов. Большинство из них основано на физическом отделении комплексов аптамер-мишень от неспецифичных нуклеиновых кислот.

Защита НК-фрагментов, находящихся в комплексе со специфическим белком, от ферментативного расщепления широко используется в экспериментах по футпринтингу сайтов связывания. Нами предложена новая схема селекции ДНК-аптамеров, основанная на ингибировании действия нуклеаз при взаимодействии аптамерных последовательностей со специфической молекулярной мишенью. Схема предполагает, что пространственная структура НК-фрагмента(ов), как и степень его доступности для воздействия, например, эндо- или экзонуклеазами, значительно изменяются, обеспечивая полную защиту от деструкции.

Нами исследуется вариант селекции ДНК-аптамеров с использованием фермента hFEN1 (human Flap-endonuclease 1) эндонуклеазы, проявляющей строгую специфичность к структуре ДНК-субстрата. Природными субстратами этого фермента являются 5'-флэп-структуры.

В работе проведен дизайн модельной системы для исследования возможности использования hFEN1 в селекции нуклеиновых кислот *in vitro*. Проанализирована зависимость эффективности расщепления различных субстратов от их структуры, типа буфера, температуры, ионной силы раствора. В отсутствие мишени показана возможность высокоэффективного расщепления библиотеки олигонуклеотидов. Определены условия, оптимальные для проведения отбора. На примере аптамеров к Taq ДНК-полимеразе и стрептавидину показана защита модельного субстрата, связанного с мишенью, от расщепления флэп-эндонуклеазой.

Таким образом, продемонстрирована принципиальная возможность проведения селекции аптамеров *in vitro* с использованием нуклеаз, высокоспецифичных к структуре НК-субстрата.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантами программы президиума РАН «МКБ», СО РАН (№ 76, 9), РФФИ (08-04-00629а) и частично ГК ФАНИ.

## INCORPORATION OF TEXTURING AND YARN SURFACE ODIFICATION USING NANOSIZED COLLOIDAL PARTICLES

**Dastjerdi R.**<sup>1</sup>, Montazer M.<sup>1</sup>, Shahsavan S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Textile Engineering Department, Center of Excellence in Textile, Amirkabir University of Technology (Tehran Polytechnic), Tehran, Iran

<sup>2</sup>Department of Microbiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Science

roya\_dastjerdi@aut.ac.ir

Considering increasing public concern about rapid and uncontrolled fast thriving of microbes control of terrible effects of microorganisms would be necessary. Surface modification of textiles with metallic and inorganic nanostructured materials is being developed due to their unique properties. One of the approaches in this field is producing microbiologically active textiles. The aim of this present paper is investigating the possibility of incorporation of bioactive surface modification and texturing of continuous filament yarns to develop an affordable surface modification method. The surface coating technique has been applied to treat polyester (PET) yarns with nanosized colloidal silver in a continuous process with a false-twist texturing. For this purpose an impregnation bath, a pair pad roller and a heater were designed and linked to the texturing machine. Consequently, impregnating, padding and drying of the filaments were carried out respectively, before the feeding them to texturing machine. In fact curing of nano-silver on the yarn surface was simultaneously performed with texturing process. The textured yarns finally were knitted. Antibacterial efficiency of produced fabrics was quantitatively evaluated against *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (as a gram negative bacterium) and *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (as a gram positive bacterium) according to AATCC 100. Increasing the amount of antimicrobial agent on the yarns resulted in the improvement of bioactivity against both bacteria. Experimental results revealed very good biostatic efficacy against *Staphylococcus aureus* appeared even by applying low nanosilver content. However higher nanosilver content was necessary to attain such antibacterial effect against *Klebsiella pneumoniae*. Considering these results, the presented technique also has a remarkable potential for high-scale manufacturing.

**Заочное участие**





## **СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ТРИТРПТИЦИНА**

**Агаева Г.А., Алиев Р.Э.**

Бакинский государственный университет, Баку, Азербайджан  
gulshen@mail.ru

Антимикробные пептиды способны эффективно бороться с бактериями и грибами, что создает перспективы для их практического применения в качестве нового антибиотика. Однако, большинство природных пептидов наряду с антимикробным обладают некоторым гемолитическим действием, то есть разрушают человеческие эритроциты. Исходя из этого факта, становится актуальной проблема создания новых искусственных аналогов природных антимикробных пептидов, которые бы обладали антибактериальной, но не имели гемолитической активности. Тритрпптицин относится к таким антимикробным пептидам. Молекула тритрпптицина состоит из 13 аминокислотных остатков. Этот пептид относится к классу Arg/Pro богатых пептидов семейства кателицидинов, выделенных из нейтрофильных гранул свиньи. По всей видимости, оригинальная аминокислотная последовательность тритрпптицина необходима для формирования определенной пространственной структуры, которая является важной для связывания пептида с мембраной. В настоящей работе нами были исследованы конформационные особенности тритрпптицина и его аланин-монозамещенных аналогов методом молекулярной механики в условиях полярной среды и среды, имитирующей окружение мембраны. Исследование пространственного строения молекулы тритрпптицина показало, что все его стабильные конформационные состояния можно сгруппировать в нескольких семействах, которые содержат идентичную конформацию центрального гептапептида и относительно гибкие концевые трипептидные участки. В энергетически предпочтительных структурах молекулы центральный гептапептид характеризуется образованием двух сопряженных бета-изгибов. Для аналогов с заменой пролина на аланин более предпочтительными становятся альфа-спиральная конформация, чем конформация с бета-изгибами. На основе полученных структурно-конформационных взаимосвязей тритрпптицина могут быть сконструированы их усовершенствованные аналоги и создан новый класс лекарств как альтернатива или дополнение в лечении различных инфекционных болезней

## ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ПЕПТИДА ИНДОЛИЦИДИНА

Алиев Р.Э., Агаева Г.А.

Бакинский Государственный университет, Баку, Азербайджан

rashid\_aliev@mail.ru

В последнее время интенсивно исследуются структурно-функциональные особенности антибактериальных пептидов в качестве потенциальных лекарственных препаратов в лечении ряда инфекционных заболеваний. Но как оказалось, некоторые антибактериальные пептиды могут проявлять побочные токсичные действия, что ограничивает их использование в лечении болезней. При разработке лекарственных препаратов на основе антибактериальных пептидов знание их пространственной организации необходимо для целенаправленной их химической модификации с целью снижения токсического действия этих пептидов, а также для предотвращения их преждевременного протеолитического расщепления в организме. Индолицидин относится к таким антибактериальным пептидам. Молекула индолицидина состоит из 13 аминокислотных остатков. По своим структурным и функциональным свойствам этот пептид относится к классу пептидов семейства кателицидинов, выделенных из нейтрофильных гранул свиньи. В настоящей работе нами была исследована пространственная структура индолицидина методом молекулярной механики в условиях полярной среды и среды, имитирующей окружение мембраны. Исследование пространственного строения молекулы индолицидина показало, что все его стабильные конформационные состояния можно сгруппировать в нескольких семействах, которые содержат идентичную конформацию центрального участка, содержащего относительно конформационно ограниченные остатки пролина и триптофана. Конформационное моделирование пространственной организации индолицидина показало, что все стабильные структуры молекулы характеризуется формированием нескольких комбинаций сопряженных бета-изгибов. Для каждой структуры индолицидина были определены энергетические значения всех межостаточных взаимодействий и координаты атомов или двугранные углы пептидной цепи молекулы. Полученные результаты могут быть использованы при создании новых более эффективных аналогов индолицидина для безопасного применения их в лечении инфекционных болезней.

## КОНФОРМАЦИОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕПТИДОВ ИЗ СЕМЕЙСТВА ГЕМОРФИНОВ

Ахвердиева Г.А.<sup>1</sup>, Набиев А.М.<sup>1</sup>, Годжаев Н.М.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Бакинский Государственный Университет, Баку, Азербайджан

<sup>2</sup>Университет Кавказ, Баку, Азербайджан

HagverdiGulnara@mail.ru

Выявление основных элементов процесса самоукладки биологически активных молекул является необходимым для моделирования молекулярного механизма их действия в организме и создания их эффективных аналогов. В представленной работе изучены конформационные профили пептидов из семейства опиоидных пептидов - геморфинов различной длины, включающих от 4 до 10 аминокислотных остатков. Методом молекулярной механики определены геометрические и энергетические параметры предпочтительных конформационных состояний пептидов, исследована конформационная динамика боковых цепей составляющих аминокислотных остатков. Методом АМ1 проведена квантово-химическая оценка стабильных конформаций пептидов, установлены такие характеристики электронной структуры, как электронная и ядерная энергия, парциальные заряды на атомах, распределение электронной плотности, электрический дипольный момент. Установлено, что исследованные последовательности имеют определённую конформационную свободу в пространстве, но наряду с этим их энергия чувствительна как к форме основной цепи, так и положению боковых цепей составляющих остатков. Выявлено, что в пространственной самосборке структур пептидов важную роль играет конформационное состояние фрагмента, соответствующего последовательности геморфина-4. Энергетически предпочтительными являются структуры, включающие поворот цепи на сегменте пролин-триптофан данного тетрапептида. В таких конформациях аминокислотные остатки тирозин, триптофан и треонин, имеющие объёмные боковые цепи, участвуют в эффективных взаимодействиях как друг с другом, так и с остальными остатками. Сопоставление полученных результатов с данными биотестов позволяет рассматривать указанный тетрапептид как активный центр, играющий важную роль в пространственной укладке и физиологическом действии геморфинов.

## СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КАРДИОАКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ

**Ахмедов Н.А.**, Агаева Л.Н., Гаджиева Ш.Н., Аббаслы Р.М., Исмаилова Л.И.  
Бакинский Государственный Университет, Институт Физических Проблем,  
Баку, Азербайджан  
Namiq.49@bk.ru

Кардиоактивные пептиды обнаружены в организмах представителей животного мира, где принимают участие в многочисленных физиологических функциях, таких как контроль мускульных движений, кардиорегуляция, регуляция боли, а также обучение. Выбор объектов исследования был продиктован их актуальностью, так как сердечнососудистые заболевания по своей распространенности занимают важное место среди наиболее часто встречающихся заболеваний в мире.

С помощью метода теоретического конформационного анализа были исследованы пространственные структуры кардиоактивных пептидов: Ser-Pro-Lys-Gln-Asp-Phe-Met-Arg-Phe-NH<sub>2</sub>, Lys-Asn-Glu-Phe-Ile-Arg-Phe-NH<sub>2</sub>, Pro-Thr-Phe-Ile-Arg-Phe-NH<sub>2</sub>, Asp-Pro-Lys-Gln-Asp-Phe-Met-Arg-Phe-NH<sub>2</sub> и Ser-Pro-Lys-Gln-Asp-Phe-Met-Arg-Phe-NH<sub>2</sub>. Для каждой из пептидных молекул был определен полный набор низкоэнергетических конформаций, найдены энергетические (вклады внутри- и межостаточных взаимодействий, энергии невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий) и геометрические параметры (значения двугранных углов основной цепи и боковых цепей аминокислот, входящих в эти молекулы).

Использование полученных низкоэнергетических конформаций кардиоактивных пептидных молекул для точечных замен отдельных аминокислот на строго определенные аминокислоты позволило априорно предсказать актуальные по своим функциональным свойствам аналоги этих природных пептидов. Точечные аминокислотные замены позволили эффективно и целенаправленно влиять на пространственную структуру природной молекулы.

Была исследована конформационная подвижность боковых цепей аминокислот, входящих в пептидные молекулы и их аналоги, и определена способность каждого аминокислотного остатка к взаимодействиям с молекулами рецепторов.

## **ВРЕМЯ ЖИЗНИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК СЕРЕБРА В МОЛЕКУЛАХ ФИКОЭРИТРИНА**

**Бекасова О.Д.**

Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, Россия

bekasova@bk.ru

Время жизни флуоресценции отдельных квантовых точек серебра, локализованных в туннельных полостях R-фикоэритрина размером 3х6 нм, измерены при помощи флуоресцентного конфокального микроскопа «MicroTime 200» с встроенным лазером LDH-D-C-485 (максимальная частота повторения 40 МГц, длина волны 478 нм, длительность импульса 88 нсек, максимальная мощность 2,1 мВт), фирма «PicoQuant», Германия. Разрешающая способность прибора позволяет вести исследования на одной молекуле в жидкой и твердой фазах; обязательное условие - наличие флуоресценции. R-фикоэритрин, использованный для получения и стабилизации наночастиц, флуоресцирует с квантовым выходом 0,85, время жизни 2,9 нсек, максимум излучения при 578 нм. Спектр флуоресценции квантовых точек серебра в молекулах R-фикоэритрина характеризуется полосами излучения при 450 нм, 510, 575, 620 и 670 нм, а интенсивность флуоресценции на порядок выше, чем в других матрицах.

Детекция индивидуальной наночастицы в воде выявила 2 типа излучающих центров со временем жизни флуоресценции 2,8 нсек и 0,18 нсек в отношении 1:30. Очевидно, присутствие наночастицы в полости пигмента практически не влияет на время жизни флуоресценции фикоэритрина. Соотношение излучающих центров 1:30 согласуется с нашими данными о том, что оболочку квантовой точки серебра образует одна молекула фикоэритрина. 0,18 нсек - время жизни флуоресценции наночастицы серебра размером 3х6 нм в деионизованной воде.

Время жизни флуоресценции отдельных квантовых точек серебра при иммобилизации на поверхности стекла увеличивается до  $0,45 \pm 0,15$  нсек, а фикоэритрина снижается до  $2,4 \pm 0,35$  нсек в отношении 2:1 соответственно. Изменения, возможно, обусловлены неспецифическим взаимодействием с поверхностью стекла и самоорганизацией квантовых точек. Предположение основано на результатах сравнения спектров поглощения и флуоресценции квантовых точек серебра в молекулах фикоэритрина свободно диффундирующих в воде и иммобилизованных на стекле.

Работа финансировалась Программой Президиума РАН 27 "Основы фундаментальных исследований нанотехнологий и наноматериалов".

## ПРОСТРАНСТВЕННАЯ И ЭЛЕКТРОННАЯ СТРУКТУРА И КОЛЕБАТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МОЛЕКУЛЫ КАРНОЗИНА

Демухамедова С.Д., Гаджиев З.И., Алиева И.Н.

Институт физических проблем Бакинского Государственного Университета,  
Баку, Азербайджан  
svetlanabest@mail.ru

Природный дипептид карнозин состоит из двух аминокислотных остатков – гистидина и  $\beta$ -аланина. Благодаря своей многофункциональности, он в последние годы привлекает к себе пристальное внимание ученых и врачей. Способность карнозина распознавать и нейтрализовывать опасные для здоровья человека молекулы путем химического связывания, способствовала широкому применению его при различных заболеваниях и нарушениях иммунной системы человека. В данной работе расчеты проводились с использованием программы ChemOffice 2004 и встроенных в нее программ MOPAC и GAUSSIAN 98. Вначале была построена модель молекулы карнозина с молекулярной формулой  $C_9H_{13}N_4O_3$  в его таутомерной форме имидазольного кольца  $N_3H$ , реализуемой в свободном карнозине. После построения модели молекулы по встроенной в ChemOffice программе MOPAC 2000 был произведен квантово-химический расчет молекулы полуэмпирическим методом расчета PM3 с волновой функцией ограниченного метода Хартри-Фока (RHF). Была произведена минимизация энергии с использованием алгоритма спуска по градиенту (Eigenvector Following, EF). Получены геометрические параметры - длины связей, валентные углы, торсионные углы, координаты атомов, межъядерные расстояния, дипольные моменты и зарядовое распределение, рассчитанное по модели Милликена, изучена заселенность атомных орбиталей. Далее на основе проведенного спектрального анализа были получены частоты колебаний, силовые постоянные и распределение потенциальной энергии по координатам атомов молекулы карнозина. Полученные частоты сравнивались с частотами экспериментального ИК спектра молекулы карнозина. Для исследования пространственной и электронной структуры молекулы был проведен неэмпирический расчет по программе GAUSSIAN 98 с использованием базиса атомных орбиталей 6-31G. Полученные геометрические, энергетические электронные и спектральные характеристики неэмпирического расчета молекулы карнозина сравнивались с данными, полученными с помощью полуэмпирического расчета методом PM3.

## ИНГИБИРОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ПРОТЕАЗ СВЕРТЫВАЮЩЕЙ СИСТЕМЫ КРОВИ НАНОЧАСТИЦАМИ НА ОСНОВЕ СУЛЬФАТИРОВАННОЙ АЛЬГИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Дрозд Н.Н.<sup>1</sup>, Ильина А.И.<sup>2</sup>, Местечкина Н.М.<sup>3</sup>, Левов А.Н.<sup>2</sup>, Орлов В.Н.<sup>4</sup>, Макаров В.А.<sup>1</sup>, Варламов В.П.<sup>2</sup>, Щербухин В.Д.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Гематологический научный центр РАМН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Центр "Биоинженерия" РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>Институт биохимии им. А.Н.Баха, Москва, Россия

<sup>4</sup>НИИ физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского, Москва, Россия

nndrozd@mail.ru

Антикоагулянт (АК) гликозаминогликан нефракционированный гепарин (НФГ) используют для профилактики и лечения тромбозов при внутривенном или подкожном введениях. Для введения *per os* разработали конъюгат НФГ с натрий N-[8(2-гидроксибензоил)амино] каприлатом (Jiao Y., 2002), микрокапсулы на основе низкомолекулярного гепарина (НМГ) тинзапарина (Lamprecht A., 2007) и комплекс на основе НМГ эноксапарина и дендримеров полиамидоамина (Bai S., 2007). Такое структурное преобразование в некоторых случаях приводит к увеличению АК активности. В последнее время возрос интерес к нанообъектам самой различной природы. Это связано с тем, что многие физические, химические и биологические свойства наночастиц значительно отличаются от аналогичных свойств у макроскопических объектов. Цель работы – исследование ингибирования активности тромбина и фактора Ха наночастицами на основе сульфатированной альгиновой кислоты (САК). Для получения наночастиц использовали коацервацию/осаждение растворами неорганических солей. Определяли антитромбиновую (aIIa) и анти-фактор Ха (aХа) активности, что означает способность ингибировать фибриногенсвертывающую активности тромбина (фактор IIa) и фактора Ха, выраженную в единицах Международных стандартов. Антитромбиновая активность наночастиц на основе САК Ca<sup>2+</sup> достоверно увеличивалась в 1,3 раза (p=0,04), aХа активность достоверно (p=0,033) увеличивалась 1,7 – 2,0 раза в сравнении с исходной САК. Таким образом, впервые показана возможность образования наноструктур на основе САК. При выбранных экспериментальных условиях их образования, наночастицы стабильны. Антикоагулянтная активность САК в наноструктурах не только не исчезает, но и увеличивается. Из первоначально полученных данных, очевидно, что для проявления активности наноструктур фактор молекулярной массы и степень замещения по сульфогруппам в полисахаридах начинают играть существенную роль.



## НАНОСТРУКТУРИРОВАНИЕ РАСПОЗНАЮЩИХ СЛОЕВ ПЬЕЗОКВАРЦЕВЫХ СЕНСОРОВ

**Калмыкова Е.Н.**, Пушилина М.Ю., Рогожников Н.А., Полетаева Ю.В., Терещенкова А.А.

Липецкий государственный технический университет, Липецк, Россия  
veter1407@rambler.ru

Исследованы способы формирования рецепторных покрытий пьезокварцевых сенсоров на основе молекул углеводов и гликолипидов (липополисахариды, гиалуроновая кислота и зостеран). Сенсоры предназначены для определения концентрации ионов тяжелых металлов ( $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ) в водных растворах и антител к патогенным бактериям *Yersinia enterocolitica* в сыворотке крови людей и животных.

В зависимости от особенностей химического строения макромолекул использованы различные методы их иммобилизации, включающие технологии самоорганизующихся монослоев, получение тонкопленочных покрытий на базе кросс-связанных гидрогелей и ковалентное закрепление к гидрофильным и гидрофобным подложкам, предварительно нанесенным на поверхность золотых и серебряных электродов резонаторов АТ-среза (10 МГц  $\pm$  1 Гц, диаметр 5 мм, ЗАО «ЭТНА, Россия»).

Регистрацию поэтапного приращения массы биослоя (на уровне нг или мкг – в зависимости от природы сорбированных молекул) осуществляли методом пьезокварцевого детектирования в статических условиях. Исследовано влияние концентрации углеводов или гликоконъюгатов, кросс-реагентов, температуры и рН среды на качество наноструктурированной поверхности углеводных сенсоров, которое оценивали по устойчивости и эффективности связывания биослоя с определяемыми компонентами анализируемых жидкостей. Показано предпочтительное использование 1% водного раствора полисахарида и 5% водного раствора глутарового альдегида в соотношении 8:1. Предложенные сенсоры с ковалентно иммобилизованными природными полианионами характеризуются высокой прочностью (выдерживают свыше 20 циклов сорбции-десорбции без снижения аналитического сигнала сенсора), позволяют определять минимальные концентрации  $Pb^{2+}$  на уровне 0,265 и 0,150 мкг/мл;  $Cd^{2+}$  - 0,593 и 0,300 мкг/мл для гиалуроновой кислоты и зостерана соответственно. Предел обнаружения антител для биослоя на основе липополисахаридов составляет 1,3 мкг/мл.

## **ПРЕДСКАЗАНИЕ АКТИВНОСТИ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ИНГИБИТОРОВ АКТИВАЦИИ КЛАССИЧЕСКОГО ПУТИ КОМПЛЕМЕНТА МЕТОДОМ КОМПЬЮТЕРНОГО СКРИНИНГА**

**Карлинский Д.М.<sup>1,2</sup>, Попов М.Е.<sup>2</sup>, Каплун А.П.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Московская Государственная академия тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия  
karlinskyd@rambler.ru

Данная работа посвящена компьютерному скринингу около 100 низкомолекулярных лигандов, являющихся потенциальными ингибиторами связывания глобулярной части C1q — белка в составе первого компонента системы комплемента — с IgG. Нами определены теоретические значения ингибирующей активности (IC<sub>50</sub>) лигандов, для которых неизвестны экспериментальные значения.

Первым этапом активации системы комплемента по классическому пути является связывание глобулярной части белка C1q с Fc-доменами антител IgG или IgM. Ряд отрицательно заряженных низкомолекулярных органических соединений ингибируют это взаимодействие путем связывания с C1q. Эти соединения могут быть использованы в качестве компонентов лекарственных средств для лечения таких болезней как инфаркт миокарда, астма, болезнь Альцгеймера, отторжение органов при трансплантациях, рассеянный склероз и др. Однако поиск новых, более эффективных ингибиторов затруднен по причине неизвестности механизма ингибирования.

Ранее мы воспользовались методом «слепого» молекулярного докинга, чтобы установить возможные сайты связывания этих низкомолекулярных лигандов с глобулярной частью C1q. Сайт связывания, для которого корреляция расчетной свободной энергии связывания и заранее известной из эксперимента ингибирующей активности (IC<sub>50</sub>) была наилучшей, был рассмотрен нами как возможный ключевой сайт, связывание низкомолекулярных лигандов с которым ведет к ингибированию связывания C1q с IgG.

Эта корреляция была использована для оценки IC<sub>50</sub> лигандов в ходе данного скрининга. В настоящее время результаты расчета подвергаются уточнению с помощью докинга на полужесткий рецептор, учитывающего подвижность некоторых боковых цепей C1q.

## ИЗУЧЕНИЕ НАНОКОМПЛЕКСОВ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ С ПРИРОДНЫМИ АМИНОКИСЛОТАМИ МЕТОДАМИ ОПТИЧЕСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Лаврик Н.Л., Муллоев Н.У.

Институт химической кинетики и горения СО РАН, Новосибирск, Россия

lavrik@ns.kinetics.nsc.ru

Несмотря на то, что салициловая кислота (СК) является широко распространённым лекарством и является довольно хорошо изученным объектом, её способность образовывать комплексы с природными аминокислотами (АК) в зависимости от их структуры достаточно не изучена. Также малоизученным является конкретный механизм образования комплексов – с переносом или без переноса электрона. В конечном счёте эта информация представляется весьма актуальной для получения сведений об эффективности взаимодействия лекарства с АК в живом организме. Целью настоящей работы является изучение стабильности комплексов СК – АК в зависимости от природы R групп методами флуоресценции и электронного поглощения. Эти методы зарекомендовали себя как надёжные инструменты для получения информации о наличии (или отсутствии) комплексообразования в растворах. Эффективность комплексообразования определялась по величине констант Штерна-Фольмера, которые измерялись в экспериментах по тушению флуоресценции СК молекулами АК.

В результате было установлено, что константы комплексообразования широко варьируются в зависимости от природы R групп. Так отношение констант для комплекса СК-Тир и СК-Гли составляет около 10. В работе обсуждаются величины констант комплексообразования для всех типов R групп: гидрофобных, полярных, кислотных и основных. Обсуждается роль молекул воды при комплексообразовании.

Эксперименты по наблюдению флуоресценции проводились на лазерном строб-флуориметре с возбуждением на длине волны 337.1 нм. Спектры поглощения записывались на спектрофотометре «Хьюлетт-Паккард».

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БЕЛКОВ В КАЧЕСТВЕ СТРОИТЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ДЛЯ БИОНАНОУСТРОЙСТВ

**Машинец Е.В.**

Инновационный Евразийский университет, Павлодар, Казахстан  
efi-m@yandex.ru

Сейчас уже всем известно, что некоторые белки, которые вырабатываются живыми организмами, могут формировать регулярные структуры в виде кристаллических решеток, которые затем можно использовать при конструировании различных бионаноустройств.

Примером таких решеток могут служить так называемые S-слои кристаллического белка толщиной в одну молекулу, которые повторяются с шагом в 10 нм и образуются на поверхности бактерий. В данном случае, бактерии представляют собой природный биореактор, который производит такие белки.

Образуемые таким образом белки можно использовать следующим образом: для начала необходимо «выгнать» бактерию из этого S-слоя. После этого, остается что-то наподобие мягкого каркаса, которому можно придать необходимую форму. Далее можно выбрать одно из двух дальнейших действий – разделить этот каркас на мелкие субъединицы или оставить в таком же виде. Если разделить каркас на его составные субъединицы, то тогда полученные молекулы белка можно использовать с ювелирной точностью в виде «кирпичиков», создавая посредством их необходимую конструкцию наноустройства.

Если каркас остается в прежнем виде, то тогда ему можно будет придать форму, которая необходима для какого-либо бионаноустройства. Создание нужной формы можно будет осуществлять приданием каркасу нужной геометрии или отделяя от него составные субъединицы.

Но, необходимо отметить, что не все белки обладают таким свойством, как формирование регулярных структур в виде кристаллических решеток.

Наработку такого белка можно будет осуществить биотехнологическим методом, а именно выращиванием в биореакторе тех бактерий, на поверхности которых формируются такие белки. Далее, после образования в биореакторе на бактерии такого кристаллического слоя, микроорганизмы необходимо будет удалять из-под их собственных нанослоев белка, а образованный белок собирать и использовать в конструировании бионаноустройств.

## **НАНОСТРУКТУРЫ ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ОСНОВЕ СПИРАЛЬНЫХ ФИТОВИРУСОВ И МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ**

**Никитин Н.А.**

Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

nik.nikitin@gmail.com

В настоящее время предпринимаются попытки использования различных органических материалов (полимерных наночастиц, липосом, мицелл) в качестве нанопереносчиков для адресной доставки лекарственных препаратов (Arguebo et al., 2007).

Целью данной работы является создание модельной системы, состоящей из вирусной частицы (платформы), магнитной наночастицы, которые позволят направить и удержать комплекс в определенном месте с помощью магнитного поля и биологически активного вещества - фермента (пероксидазы хрена).

Использование фитовирусов является абсолютно биобезопасным, т.к. растения не имеют общих патогенов с человеком и животными. В то же время спиральные фитовирусы - это жесткие, стабильные биоструктуры, обладающие способностью к самосборке.

В работе применялись магнитные наночастицы с диаметром 50 нм – fluidMAG-ARA («Chemicell»). Иммунизация пероксидазы хрена на магнитных наночастицах (из расчета 2 молекулы пероксидазы на магнитную наночастицу) проводилась карбодимидным методом по протоколу фирмы «Chemicell». Показано, что при иммунизации пероксидазы хрена на магнитных наночастицах ее активность не изменялась.

На следующем этапе магнитные наночастицы с пероксидазой хрена связывали с вирионами вируса табачной мозаики (при соотношении одна вирусная частица на одну магнитную наночастицу). С помощью электронной микроскопии показано, что магнитные наночастицы эффективно связывались с вирусом, являющимся платформой для образования тройного комплекса: вирус - магнитная наночастица - биологически активное вещество, при этом активность фермента также сохранялась.

Предлагаемый комплекс может быть использован в молекулярной медицине для контролируемой доставки биологически активных веществ (антител, ферментов, лекарственных препаратов).

## **СОРТОСПЕЦИФИЧЕСКАЯ СПОСОБНОСТЬ ДОЛГОЖИВУЩЕЙ РНК ЗРЕЛОГО ЗЕРНА ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ ПРЕДОТВРАЩАТЬ АГРЕГАЦИЮ ЗОЛОТЫХ НЕФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦ**

**Плотников В.К.<sup>1</sup>, Евтушенко Я.Ю.<sup>1</sup>, Богатырёв В.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Краснодарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. П.П. Лукьяненко, Краснодар, Россия

<sup>2</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия

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

В мировой науке высокая чувствительность и селективность молекулярного узнавания, основанная на комплементарных ДНК-ДНК, ДНК-РНК взаимодействиях в совокупности с уникальными оптическими свойствами плазмонно-резонансных наночастиц коллоидных систем благородных металлов, положили начало созданию нового раздела междисциплинарной науки - молекулярной нанотехнологии. Существенный интерес представляет способность одноцепочечных нуклеиновых кислот (преимущественно РНК) предотвращать агрегацию золотых нефункционализированных наночастиц. Это происходит, вероятно, за счёт электростатических взаимодействий между отрицательно заряженными фосфатными группировками нуклеиновых кислот и высокополяризованными золотыми наночастицами, что является перспективным в исследовании экспрессии генов и разработки на этой основе новых методов диагностики биологических свойств организмов. Нами получены данные, показывающие что долгоживущая РНК из зрелого зерна озимой пшеницы и озимого ячменя действует в этом отношении сортоспецифично. Чем слабее морозостойкость сорта, т.е. чем более рРНК зрелого зерна обогащена 18S рРНК, у которой по нашим данным выше содержание катионов магния ( $Mg^{2+}$ ) по сравнению с 25S рРНК, тем эффективнее эта РНК предотвращает агрегацию золотых нефункционализированных наночастиц (15 нм) под влиянием хлористого натрия. Вероятно это определяется конформацией РНК: чем выше содержание катионов магния, тем более развита вторичная и третичная структура РНК и тем плотнее такие молекулы экранируют наночастицы коллоидного золота.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФОТОАПТАМЕРНЫЕ КОНСТРУКЦИИ КАК ПОДХОД К СОЗДАНИЮ НОВЫХ АФФИННЫХ РЕАГЕНТОВ

**Радько С.П.**, Рахметова С.Ю., Гнеденко О.В., Бодоев Н.В., Иванов А.С., Арчаков А.И.

НИИ биомедицинской химии им. В.Н.Ореховича, Москва, Россия

radko@ibmc.msk.ru

Фотоаптамеры рассматриваются как перспективные аффинные реагенты для создания «узнающих элементов» микрочипов для мультиплексной детекции белков в сыворотке и плазме кров. Они представляют олигонуклеотиды, способные связываться с заданной белковой мишенью и образовывать фотоиндуцированные сшивки при облучении комплексов ультрафиолетом за счёт содержащихся в их последовательностях галогенированных оснований. Как образование комплексов, так и формирование фотоиндуцированных сшивок происходит специфически, так что селективность детекции белка-мишени в биологической жидкости по образованию необратимых фотоиндуцированных комплексов фотоаптамер-белок может приближаться к селективности иммунохимического анализа в «сэндвич-формате». Введение нескольких аптамерных (фотоаптамерных) мотивов в химически синтезированные полинуклеотидные последовательности, содержащие взаимно комплементарные участки, позволит создавать пространственные молекулярные конструкции, несущие несколько аптамеров и способные взаимодействовать более с чем одним сайтом узнавания на поверхности белка. Используя как модель анти-тромбиновые аптамеры, узнающие различные участки поверхности тромбина, мы показали, что их объединение даже в простейшую гетеродимерную конструкцию, представляющую один полинуклеотид с двумя аптамерными мотивами, приводит при оптимизации расстояния между аптамерами к 30-кратному усилению аффинности. Как показали измерения на оптическом биосенсоре Viacore-3000, комплексы тромбина с гетеродимерными конструкциями более стабильны, чем исходные аптамеры, что проявлялось в уменьшении величины константы скорости диссоциации. При конвертации одного из аптамеров в фотоаптамер и включении его в состав такой конструкции, концентрационный порог детекции необратимых комплексов с тромбином снижался на два порядка. Это указывает на возможность существенного повышения эффективности фотоаптамеров путём создания фотоаптамерных молекулярных конструкций.

## **ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ**

**Резниченко Л.С.<sup>1</sup>, Шпилевая С.И.<sup>2</sup>, Грузина Т.Г.<sup>1</sup>, Дыбкова С.Н.<sup>1</sup>, Ульберг З.Р.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт биокolloидной химии им. Ф.Д. Овчаренко НАНУ, Киев, Украина

<sup>2</sup>Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАНУ, Киев, Украина  
tguzina@mail.ru

На сегодняшний день механизмы влияния наночастиц золота на биологические системы, особенно их зависимость от размера, концентрации и формы наночастиц интенсивно изучаются. Понимание этих механизмов открывает новые возможности использования наночастиц золота в биотехнологии и медицине. С целью исследования влияния наночастиц золота на биологические системы разного уровня организации были синтезированы наночастицы золота со средним размером частиц ~10, ~20, ~30 и ~45 нм. Особенности влияния наночастиц золота на прокариотические клетки изучены на примере штаммов-пробионтов: *E. coli* Г35№1-413, Г35№1-412, Г35№1-411 и *Ent. faecalis* Г35№4-410. Определены эффективные размерные и концентрационные диапазоны наночастиц золота, в которых наблюдалась выраженная стимуляция всех показателей функциональной активности микроорганизмов, в том числе их биологических свойств. Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения наночастиц золота с целью управления интенсивностью физиолого-биохимических процессов микроорганизмов-пробионтов, что является актуальным в технологиях производства биологических препаратов. В качестве модели эукариотических клеток для изучения механизмов влияния наночастиц золота использовались опухолевые клетки линии U937 (human leukemic monocyte lymphoma cell line). Анализ их контактного взаимодействия с наночастицами золота позволил установить выраженную концентрационную и размерную зависимость величины аккумуляции наночастиц клетками, а также быструю кинетику этого процесса. Визуальное подтверждение контактного взаимодействия получено методами конфокальной микроскопии и трансмиссионной электронной микроскопии. Обнаружена размерная и концентрационная зависимость влияния наночастиц золота на ферментативные активности плазматической мембраны и энергетического метаболизма (гликолиза и дыхательной цепи). Полученные результаты открывают новые возможности использования наночастиц золота в диагностике и терапии онкозаболеваний.



## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА ЗОБА ХИМИЧЕСКОЙ ЭТИОЛОГИИ

**Рябцева Е.Г.**, Ковальский Ю.Г.

Дальневосточный государственный медицинский университет, Хабаровск, Россия

rjabtceva@mail.ru

При обследовании промышленного города Хабаровского края выявлена зубная эндемия тяжелой степени. Патология щитовидной железы была обнаружена у двух третей обследованных детей и взрослых. Этиопатогенетическим фактором ее явился метилмеркаптан, концентрация которого в атмосферном воздухе превышала ПДК до 100 раз.

Установлено существенное снижение эффективности витаминного и глутатионового звеньев антиоксидантной защиты и накопление продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ): малонового диальдегида было в 2 раза выше, чем в контрольной группе. Отмечено снижение содержания восстановленного глутатиона, аскорбиновой кислоты, витамина А и альфа-токоферола. Содержание этих антиоксидантов было за пределами нижней границы нормы практически у всех обследованных. Снижалась активность глутатионпероксидазы (ГПО) и супероксиддисмутазы (СОД). Это свидетельствует о значительном снижении эффективности антиоксидантной защиты, что приводит к интенсификации ПОЛ. Выявлена корреляция между содержанием альфа-токоферола в крови и уровнем свободного тироксина.

При экспериментальном воздействии на животных метилмеркаптаном нами обнаружены в целом сходные изменения. Содержание продуктов ПОЛ существенно повышалось, что сопровождалось нарушениями ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной защиты тканей: падало содержание восстановленного глутатиона, снижалась активность СОД, каталазы, ГПО.

Установлен дефицит селена у населения, его содержание составляет 60-80% от оптимального уровня. Дефицит селена обусловлен недостатком этого микроэлемента в почве и продуктах питания. Снижение ферментативного звена антиоксидантной защиты наряду с активацией ПОЛ приводит к формированию мембранной патологии и повреждению тиреоцитов, нарушению биосинтеза тиреоидных гормонов. Оптимальным путем профилактики будет прием препаратов селена в форме наноселена, у которого по сравнению с другими формами гораздо более низкая токсичность.

## ДОСТАВКА БЕЛКОВ В КЛЕТКИ НАНОЧАСТИЦАМИ ХИТОЗАНА

Свирщевская Е.В.<sup>1</sup>, Зубарева А.А.<sup>2</sup>, Ильина А.В.<sup>2</sup>, Алексеева Л.Г.<sup>1</sup>, Решетов П.Д.<sup>1</sup>, Зуева В.С.<sup>1</sup>, Варламов В.П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Центр "Биоинженерия" РАН, Москва, Россия

esvir@mx.ibch.ru

Разработка мукозальных вакцин для медицины требует поиска новых систем доставки белков и пептидов. Такая система должна удовлетворять ряду критериев, основными из которых должны быть: 1) способность «проводить» белки/пептиды через барьер эпителиальных клеток; 2) обеспечивать концентрирование и удержание белков, а также защиту от действия протеолитических ферментов тканей и сыворотки крови; 3) обладать способностью активировать резидентные антигенпредставляющие клетки; 4) быть биodeградируемой; 5) иметь низкую стоимость. Многими из этих качеств обладает природный биополимер хитозан, биodeградируемый поликатион аминополисахарид 2-амино-2-дезоксид-β-D-глюкан, получаемый при деацетилировании хитина. Целью данного исследования было получение наночастиц на основе модифицированного хитозана и сравнение эффективности доставки белков в эпителиальные клетки наночастицами хитозана и низкомолекулярным неагрегированным хитозаном. В качестве модельного белка использовали бычий сывороточный альбумин, меченный флюоросцеином (БСАФ). Хитозан метили родамином, что позволило провести анализ проведения хитозаном БСА в клетки линии кератиноцитов человека HaCaT и почки человека НЕК методом ко-локализации на конфокальном микроскопе. Наночастицы хитозана были получены методом иотропного гелеобразования из хитозана массой 200 кДа и степенью деацетилирования 86%. Комплексы хитозана или наночастиц с БСАФ формировали в течение 30 мин при комнатной температуре при соотношении 1:1, добавляли их к монослою клеток, выращенных на покровных стеклах и инкубировали 3 часа. Показали, что как наночастицы, так и свободный хитозан собирают весь белок в макрокомплексы вокруг клеток. Часть комплексов наночастиц с БСАФ проходит в клетки и локализуется вокруг ядра. Свободный хитозан в меньшей степени проводит белок. Соответственно, использование наночастиц хитозана имеет преимущество перед свободным низкомолекулярным хитозаном как система доставки белков через мукозальный барьер.

## **МОДУЛЬНЫЙ НАНОТРАНСПОРТЕР ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ В ЯДРА КЛЕТОК-МИШЕНЕЙ УВЕЛИЧИВАЕТ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА IN VIVO**

**Сластникова Т.А.<sup>1,2</sup>, Розенкранц А.А.<sup>1,2</sup>, Гулак П.В.<sup>1</sup>, Скиффелерс Р.М.<sup>3</sup>, Соболев А.С.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Биологический факультет Московского государственного университета им М.В.Ломоносова, Москва, Россия

<sup>3</sup>Отделение Фармацевтики, Утрехтский институт фармацевтики, Научный факультет, Утрехтский Университет, Утрехт, Нидерланды

slasya@gmail.com

Важной проблемой терапии онкологических заболеваний является направленная доставка действующих веществ в опухолевые клетки. В лаборатории был разработан ряд модульных нанотранспортеров (МН), использующих естественные клеточные механизмы транспорта и сортировки макромолекул для направленной доставки локально действующих лекарств в заданный компартмент клеток-мишеней. Для системы *in vitro* ранее было показано, что фотосенсибилизаторы (ФС), конъюгированные с МН, на 2-3 порядка более эффективны по сравнению со свободными ФС, а также обладают клеточной специфичностью в отличие от свободных ФС. Целью данной работы было изучение терапевтических свойств МН на животной модели *in vivo*.

В работе исследовали МН следующего состава: (1) эпидермальный фактор роста - интернализуемый лигандный модуль к рецепторам ErbB1, сверхэкспрессия которых характерна для ряда раковых опухолей; (2) транслокационный домен дифтерийного токсина, обеспечивающий выход МН из эндосом в цитоплазму; (3) оптимизированный сигнал ядерной локализации большого Т-антигена вируса SV-40; (4) бактериальный гемоглобиноподобный белок, носитель для ФС.

Результаты проведенных экспериментов показали, что присоединение ФС хлорина е6 к МН значительно повышает эффективность его действия *in vivo*. Фотодинамическая терапия (ФДТ) эпидермоидной карциномы человека A431, привитой бестимусным мышам, с использованием ФС, конъюгированного с МН вызывает задержку роста опухоли на 31 день по сравнению с группой, леченной свободным ФС. Выживаемость достигает 75% в группе, леченной ФС, присоединенным к МН, и лишь 20% в случае применения свободного ФС.

Высокая эффективность ФДТ с применением конъюгата МН с хлорином е6 в системе *in vivo* позволяет говорить о перспективности данного подхода адресной доставки лекарств.

## **ПОЛУЧЕНИЕ ВИРУСОПОДОБНЫХ ЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ БЕЛКА ОБОЛОЧКИ ВИРУСА МОЗАИКИ АЛЬТЕРНАНТЕРЫ**

**Смирнов А.А.,** Мухамеджанова А.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,  
биологический факультет, кафедра вирусологии, Москва, Россия  
smirovir@mail333.com

Получение вирусоподобных наноразмерных частиц на основе капсидных белков вирусов, представляющих на своей поверхности вакцинные эпитопы, позволит разработать качественно новые подходы для создания препаратов медицинского назначения. Наночастицы на основе вирионов вирусов растений обладают рядом преимуществ, благодаря отсутствию общих патогенов у растений и человека, а также невысокой стоимости их получения.

Белки оболочки (БО) различных вирусов способны полимеризоваться *in vitro*, в отсутствие вирусной РНК, с образованием вирусоподобных частиц (ВПЧ). ВПЧ не содержат вирусной нуклеиновой кислоты и, соответственно, более безопасны для человека, чем нативные вирионы.

Данная работа посвящена изучению способности БО вируса мозаики альтернантеры (ВМальт) образовывать вирусоподобные частицы.

В нашей лаборатории был выделен штамм вируса мозаики альтернантеры (ВМальт-Рус) и определена его нуклеотидная последовательность (GenBank FJ822136.1). Наиболее близким родственником ВМальт является вирус мозаики папай (ВМП). Известно, что БО ВМП способен полимеризоваться *in vitro*, в отсутствие вирусной РНК, с образованием ВПЧ, обладающих высокой иммуногенностью и вызывающих как клеточный, так и гуморальный иммунный ответ. Поэтому, мы предположили, что БО ВМальт-Рус также способен образовывать ВПЧ.

Нами было показано, что БО ВМальт-Рус, в отсутствие вирусной РНК, образует ВПЧ, структура которых близка к вирионной. С помощью метода атомно-силовой микроскопии были определены линейные размеры полученных ВПЧ: длина от 60 до 2000 нм, высота 6-7 нм, и ширина 20 нм.

Таким образом, нами показано, что БО ВМальт-Рус полимеризуется *in vitro*, в отсутствие вирусной РНК, с образованием ВПЧ, структура которых близка к вирионной.

В настоящее время нами разрабатываются подходы для использования полученных ВПЧ в качестве платформы для презентации вакцинных антигенов.

## ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИПЛЕКСОВ ДЛЯ ДОСТАВКИ ГЕНОВ ПОД КОНТРОЛЕМ ОПУХОЛЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ПРОМОТОРОВ

Уласов А.В.<sup>1</sup>, Трусов Г.А.<sup>1,2</sup>, Храмцов Ю.В.<sup>1</sup>, Розенкранц А.А.<sup>1,2</sup>, Сverdлов Е.Д.<sup>3</sup>, Соболев А.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии гена Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>2</sup>Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова

<sup>3</sup>Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

bornuwa@gmail.com

Использование синтетических невирусных векторов – полиплексов, комплексов поликатионов с ДНК, для доставки генетической информации в клетки обладает целым рядом преимуществ по сравнению с вирусными средствами доставки: высокая емкость для переносимого генетического материала, относительно низкая себестоимость и простое производство, а также широкие возможности для модификации полиплексов.

В ходе работы нами были созданы полиплексы на основе синтетического поликатиона – полиэтиленimina (ПЭИ). Для увеличения гидрофильности комплексов ПЭИ конъюгировали с полиэтиленгликолем (ПЭГ), а для улучшения проникновения полиплексов в клетки к блок-сополимеру ПЭИ-ПЭГ был присоединен ТАТ-пептид.

При трансфекции клеток особый интерес представляет экспрессия транскенов, работающих под специфическим промотором. Поэтому эффективность трансфекции мы оценивали с помощью плазмиды, кодирующей зеленый флуоресцентный белок (EGFP) под контролем опухолеспецифичных промоторов: сурвивинового (*surv*) промотора человека и теломеразного (*tert*) промотора человека (в плазмиде, любезно предоставленной И.В. Коробко, ИБГ РАН); в качестве контроля был использован цитомегаловирусный (*cmv*) промотор в составе плазмиды pEGFP-N1. Эксперименты на клетках эпидермоидной карциномы легкого человека линии Calu-1 и клетках меланомы мышей Клаудмана S91 (M3) показали, что при доставке полиплексами экспрессия EGFP осуществляется под контролем всех 3 указанных промоторов. Экспрессия EGFP под контролем сильного неспецифического *cmv* промотора показывала максимальный достижимый уровень трансфекции клеток полиплексами. При доставке полиплексами плазмид, несущих ген *egfp* под контролем опухолеспецифичных *surv* и *tert* промоторов, экспрессия EGFP также осуществлялась, хотя процент трансфекции был несколько меньше. Эти данные свидетельствуют о возможности применения полиплексов для доставки в клетки терапевтических генов с последующей опухолеспецифической экспрессией.

## **Авторский указатель**



Аббаслы Р.М. 111  
Абрамова Т.В. 52  
Агаева Г.А. 108, 109  
Агаева Л.Н. 111  
Агапкина Ю.Ю. 19  
Азарова И.Н. 98  
Александрова Г.П. 97  
Алексеева Л.Г. 124  
Алексеев И.В. 61  
Алиев Р.Э. 108, 109  
Алиева И.Н. 113  
Алкалаева Е.З. 81  
Амирханов Н.В. 11, 62  
Амирханов Р.Н. 11, 62  
Анарбаев Р.О. 63  
Андреев Д.С. 12  
Анненков В.В. 88  
Антипов С.А. 13  
Антонова О.В. 24  
Анюшин А.В. 64  
Апалько С.В. 65  
Апарцин Е.К. 66  
Арчаков А.И. 14, 25, 36, 41, 101, 121  
Асеев А.Л. 41  
Ахвердиева Г.А. 110  
Ахмедов Н.А. 111

**Бабкина И.Н. 99**  
Байбородин С.И. 90  
Бакланова О.Н. 49  
Балахнин С.М. 90  
Банникова С.В. 44  
Барам Г.И. 98  
Барский В.Е. 24  
Барсов К. 55  
Баюков О.А. 78

Безуглова А.М. 96  
Бекасова О.Д. 112  
Белоглазкина Е.К. 38  
Белогуров А.А. 16  
Бобик Т.В. 72  
Бобко А.А. 67  
Богатырёв В.А. 120  
Бодоев Н.В. 121  
Божко Ю.Ю. 67  
Бондарь В.С. 15, 47, 85, 89  
Борисенко А.С. 68  
Боровская А.Д. 26  
Бунева В.Н. 42  
Бусыгина Т.В. 69  
Бэкон А. 16

**Вайнер О.Б. 70**  
Вакштейн М.С. 73  
Вандышева Н.В. 70  
Варламов В.П. 114, 124  
Варнек В.А. 54  
Васильева С.В. 52, 102  
Веньяминова А.Г. 66, 84, 86, 87, 96  
Верхозина М.М. 97  
Веселовская А.В. 49  
Виноградова О.А. 71  
Виноградова Т.В. 61  
Власов В.В. 23, 76, 100  
Волкова И.Ю. 73  
Воробьев П.Е. 103  
Воронина Е.Н. 87

**Габибов А.Г. 16**  
Гаджиев З.И. 113  
Гаджиева Ш.Н. 111  
Ганковская О.А. 68  
Гашникова Н.М. 83



- Генерозов Э.В. 17  
Генкин Д.Д. 16  
Герасимова Ю.В. 72  
Гешев П.И. 77  
Глазко В.И. 18  
Глушков А.Н. 65  
Гнеденко О.В. 121  
Говорун В.М. 26  
Годжаев Н.М. 110  
Годовикова Т.С. 49, 72  
Горячкова Т.Н. 44  
Готтих М.Б. 19  
Грайфер Д.М. 28  
Грачев М.А. 20  
Григорьев И. 100  
Грищенко Л.А. 97  
Грузина Т.Г. 122  
Грядунов Д.А. 24  
Гулак П.В. 125  
Гурин А.Н. 79
- Дамбаев Г.Ц. 13  
Даниловцева Е.Н. 88  
Дежуров С.В. 73  
Деменков П.С. 31  
Демидов Е.А. 44  
Демина Т.В. 97  
Демухамедова С.Д. 113  
Джиоев Ю.П. 97  
Диканов С.А. 92  
Дмитриенко Е.В. 70, 74, 83  
Добрецов К.Г. 82  
Донцова О.А. 94  
Дорощенко Е.К. 97  
Дрозд Н.Н. 114  
Дроздов-Тихомиров Л.Н. 21  
Дубнякова В.В. 56
- Дудников А.В. 75  
Дудченко Н.В. 41  
Дужак Т.Г. 44  
Дыбкова С.Н. 122
- Евтушенко Я.Ю. 120  
Ермаков А.Е. 13  
Ефремов А.Н. 76
- Жанаев Э.Д.** 41  
Жарков Д.О. 22
- Зайковский В.И. 66  
Запорожченко И.А. 70  
Зарытова В.Ф. 11, 62, 83, 90, 102  
Заседателев А.С. 24  
Зверева М.Э. 94  
Звягильская Р.А. 21  
Згода В.Г. 36  
Зелинский С.Н. 88  
Зенкова М.А. 23, 76, 93  
Зилов С.А. 97  
Зименков Д.В. 24  
Зимовец С.В. 77  
Зубарева А.А. 124  
Зуева В.С. 124  
Зык Н.В. 38
- Иванисенко В.А.** 31  
Иванов А.С. 121  
Иванов Ю.Д. 25, 36, 41  
Иглина А.А. 84  
Ильина А.В. 124  
Ильина А.И. 114  
Ильина Е.Н. 26  
Инжеваткин Е.В. 78, 82  
Исмагилов З.Р. 11, 27, 62, 90, 102  
Исмаилова Л.И. 111

Исхаков Р.С. 78  
Ищенко Л.А. 82, 78  
  
Кабиллов М.Р. 64, 83  
Калмыкова Е.Н. 115  
Каплун А.П. 116  
Каргаполов Ю.С. 98  
Карлинский Д.М. 116  
Карпова Г.Г. 28  
Касимова С.К. 37  
Кириллук И. А. 67  
Киселев Ф.Л. 94  
Киселева Е.В. 29  
Кнорре Д.Г. 72  
Ковалёва Е.С. 79  
Коваль В.В. 30  
Коваль О.А. 95, 99  
Ковальский Ю.Г. 123  
Козлов А.С. 44  
Козлова И.В. 97  
Коленчукова О.А. 82  
Колчанов Н.А. 31, 44, 55  
Комаров Д.А. 67  
Комлев В.С. 79  
Кондратенко Е.И. 37  
Копанцев Е.П. 61  
Королев С.П. 19  
Королева Л.С. 52  
Короленкова Л.П. 94  
Коршун В.А. 56  
Костина Е.В. 91  
Кострцева М. 26  
Костыро Я.А. 97  
Костянко М.В. 65  
Кочнева Г.В. 43  
Крашенинина О.А. 86  
Кривцов Г.Г. 68

Крофтс А.Р. 92  
Круппа А.И. 35  
Кручинин В.Н. 50, 80  
Крючкова П.Н. 81  
Кудряшова Н.В. 49  
Кузнецов Н.А. 62  
Кулигина Е.В. 95, 99  
Куликов А.И. 55  
Кулипанов Г.Н. 44  
  
Лаврик Н.Л. 117  
Лаврик О.И. 32, 63, 103  
Лавров В.Ф. 68  
Ладыгина В.П. 78, 82  
Лактионов П.П. 70  
Латышев А.В. 33, 41, 93  
Левина А.С. 83, 90, 102  
Левов А.Н. 114  
Лёшина Т.В. 35  
Липсон Н.Ю. 37  
Лисак О.В. 97  
Лисица А.В. 36, 101  
Лихолобов В.А. 49  
Ломзов А.А. 62, 71, 87  
Ломтева Н.А. 37  
Лосева Е.М. 70  
  
Мажуга А.Г. 38  
Макаров В.А. 114  
Максакова Г.А. 91  
Малуп Т.К. 44  
Малыгин А.А. 28  
Мартынович Е.Ф. 97  
Маслов М.А. 93  
Масяго Н.А. 98  
Матвеев Л.Э. 99  
Матвеева В.А. 65, 99

Машинец Е.В. 118  
Медведева Д.А. 93  
Меледин В.Г. 39  
Местечкина Н.М. 114  
Мещанинова М.И. 84  
Мильто И.В. 40  
Михайлович В.М. 24  
Могильная О.А. 15, 85  
Мордвинов В.А. 44  
Морозкин Е.С. 70  
Муллоев Н.У. 117  
Мухамеджанова А.А. 126  
Мысик А.А. 13

**Набиев** А.М. 110  
Назипова Н.Н. 21  
Насимов Д.А. 41  
Наумова О.В. 41  
Невинский Г.А. 42, 96  
Нетёсов С.В. 43  
Никитин Н.А. 119  
Новопашин С.А. 66  
Новопашина Д.С. 66, 86, 87

**Орлов** В.Н. 114

**Павлова** А.С. 90  
Павлова Л.С. 94  
Пальшин В.А. 88  
Пальянов А.Ю. 55  
Пельтек С.Е. 44  
Перепечко Л.Н. 45  
Петров А.К. 44  
Петрова С.С. 35  
Петунин А.И. 89  
Плотников В.К. 120  
Подколodный Н.Л. 31

Покровский А.Г. 100  
Полетаева Ю.В. 115  
Поляков Н.Э. 35  
Понамаренко Н.А. 72  
Попик В.М. 44  
Попов В.П. 41  
Попов М.Е. 116  
Попова Т.В. 72  
Приказчикова Т.А. 19  
Принц В.Я. 46  
Пузырь А.П. 15, 47, 85, 89  
Пуртов К.В. 15, 78, 89, 82  
Пустыльняк В.О. 100  
Путляев В.И. 79  
Пушилина М.Ю. 115  
Пышная И.А. 70, 74, 83  
Пышный Д.В. 23, 48, 64, 70, 71, 74, 76, 83, 103  
Пьянова Л.Г. 49

**Радько** С.П. 121  
Рапопорт Д.А. 93  
Рахметова С.Ю. 121  
Ребров А.К. 54  
Резниченко Л.С. 122  
Репин В.Е. 54  
Репкова М.Н. 83, 90, 102  
Решетов П.Д. 124  
Рихтер В.А. 95, 99  
Рогожников Н.А. 115  
Рогоза А.В. 76  
Розенкранц А.А. 125, 127  
Романов С.И. 70  
Рубцова М.П. 94  
Рыхлицкий С.В. 50, 80  
Рябинин В.А. 91  
Рябцева Е.Г. 123

- Салахутдинов Н.Ф. 35  
Самойлова Р.И. 92  
Саранина И.В. 54  
Сафонов А.И. 54  
Сафронов Л.Н. 41  
Свердлов Е.Д. 61, 127  
Свирщевская Е.В. 124  
Семенов Д.В. 95, 99  
Семенова Е. 100  
Семенюк П.И. 51  
Серебренникова Г.А. 93  
Серигов Р.Н. 76, 84, 93  
Сильников В.Н. 52, 102  
Синяков А.Н. 91  
Скворцов Д.А. 94  
Скворцова Т.Э. 70  
Скиффелерс Р.М. 125  
Сластникова Т.А. 125  
Слепнева И.А. 67  
Смирнов А.А. 126  
Смирнов И.В. 16  
Смолов М.А. 19  
Соболев А.С. 125, 127  
Соколов К. 12  
Спесивцев Е.В. 50, 80  
Старченко А.А. 97  
Степанов Г.А. 95  
Столяр С.В. 78, 82  
Сухов Б.Г. 53, 97  
Суходоло И.В. 40
- Танцырев А.П. 97  
Тарабан М.Б. 35  
Терещенкова А.А. 115  
Тиванова А.С. 96  
Тикунова Н.В. 99  
Тимошенко Н.И. 54
- Титов И.И. 55  
Ткачев С.Е. 97  
Толстикова Г.А. 35  
Толстикова Т.Г. 35  
Трофимов Б.А. 53  
Трусов Г.А. 127
- Уймин М.А. 13  
Уласов А.В. 127  
Ульберг З.Р. 122  
Устинов А.В. 56  
Ушакова И.В. 97
- Фадеева И.В. 79  
Файзулов Е.Б. 68  
Федорова О.С. 30  
Федущак Т.А. 13  
Филиппенко М.Л. 65, 87  
Филиппов Н.С. 71  
Фокина А.А. 96  
Фоменко В.В. 98  
Фомин А.С. 99  
Фомин Б.И. 41
- Хлусов И.А. 13  
Ходырева С.Н. 103  
Холодарь С.А. 87  
Храмцов В.В. 67  
Храмцов Ю.В. 127  
Храпов Е.А. 65
- Чересиз С.В. 100  
Чернобровкин А.Л. 101  
Черноловская Е.Л. 23  
Чиркова О.А. 49
- Шабанов М.П. 79  
Шакиров М.М. 72

Шарина И.А. 45  
Шацкая Н.В. 102  
Швец В.А. 50, 80  
Шевченко И.В. 103  
Шестаков Ю.В. 45  
Шикина Н.В. 11, 90, 102, 62  
Шпилевая С.И. 122

**Щеглов Д.В.** 93  
Щеглов М.А. 44  
Щелкунов С.Н. 57  
Щербухин В.Д. 114

**Юбанк Т.** 67

Arriaga E.A. 12  
Dastjerdi R. 104  
Montazer M. 104  
Shahsavan S. 104  
Sprinzi M. 58

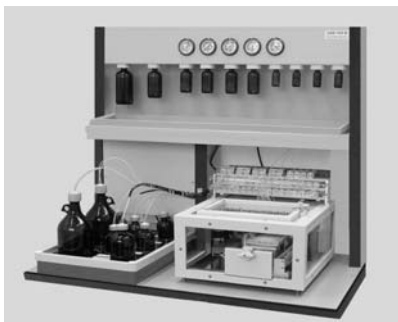
# АВТОМАТИЧЕСКОЕ ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ СИНТЕЗА ФРАГМЕНТОВ ДНК и РНК

Научно-производственная компания ООО «БИОССЕТ» предлагает автоматическое оборудование для синтеза природных, вырожденных и модифицированных фрагментов ДНК, РНК и их аналогов.



## СИНТЕЗАТОР ДНК/РНК ASM-800

- Производительность: 16 фрагментов за 8 часов
- Масштаб синтеза: 20-400 наномоль
- Эффективность синтеза – более 98,5%
- Количество емкостей для мономеров – 8
- Количество емкостей для реагентов и растворителей – 10
- Подача реактивов с дискретностью 1 мкл
- Термостатированный режим синтеза
- Управление – от стандартного компьютера



## СИНТЕЗАТОР ДНК/РНК ASM-1000

- Производительность: 192 фрагмента за 8 часов
- Масштаб синтеза: 10-400 наномоль
- Формат: 96-луночный планшет
- Эффективность синтеза – более 98,5%
- Стоимость реактивов на шаг – менее 3 рублей
- Количество емкостей для мономеров – 32
- Количество емкостей для реагентов и растворителей – 9
- Управление – от стандартного компьютера



## УСТАНОВКА ДЛЯ ОЧИСТКИ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ OPS-201

Очистка фрагментов ДНК и РНК и их аналогов с помощью обращено-фазовых картриджей.

- Производительность: 16 фрагментов за 8 часов
- Масштаб очистки – 1-20 О.Е.
- Количество каналов очистки - 2
- Качество очистки – (92-96)% по ВЭЖХ
- Автономный прибор с управлением от микроконтроллера

Все оборудование поставляется с гарантией 1 год и более.

Запуск оборудования и обучение персонала выполняется сертифицированными специалистами ООО «БИОССЕТ». Оборудование поставляется со всеми необходимыми для работы реактивами и расходными материалами.

**ООО «БИОССЕТ»**

630090, Новосибирск, пр. Лаврентьева 8

Тел./Факс: +7 (383) 330-3516 [www.biosset.com](http://www.biosset.com)

**bioSet**

## Life Sciences

Подразделение *Life Sciences* компании *GE Healthcare* объединило такие признанные научным сообществом бренды как *Amersham Biosciences, Pharmacia Biotech, Molecular Dynamics, Hoefer Scientific Instruments, LKB-Produkter, Dan-Process* и др., став одним из лидеров в оснащении научно-исследовательских лабораторий, фармацевтических и биотехнологических производств как крупными приборами, так и небольшими устройствами для научных исследований, расходными материалами и реактивами.

**Хроматографы ÄKTAdesign™** от простых лабораторных до крупномасштабных промышленных приборов, управляемые универсальной программой UNICORN™, что позволяет легко масштабировать процессы, разработанные в лаборатории. А также широкий выбор хроматографических сорбентов и колонок для выделения белков



Самые современные переменные **имеджеры** для работы с радиоактивными, флуоресцентными и хемилюминесцентными метками.



Уникальная автоматизированная система **IN Cell Analyzer 1000** для получения и анализа изображений клеток на клеточном и субклеточном уровнях с использованием флуоресцентных меток.



А также **Спектрофотометры, электрофоретические камеры, наборы для пробоподготовки.**

Более подробную информацию по продуктам, брошюры, ссылки на статьи и методики Вы также можете найти на нашем сайте –

<http://www.gelifesciences.com>



Сделано в Японии  
Гарантия 5 лет



## Микроскопы MEIJI TECHNO

[www.meijitechno.com](http://www.meijitechno.com)  
[www.meijitechno.ru](http://www.meijitechno.ru)

Meiji Techno занимает третье место среди производителей оптических микроскопов в Японии. Компания была основана в 1964 году и она быстро завоевала хорошую репутацию благодаря высокому качеству и быстрым срокам поставки продукции.

Производство компании расположено в префектуре Сайтама города Токио, Япония.

Гарантия на механические части микроскопов — пять лет, на электронные компоненты — один год.

Вне зависимости от того, где Вы находитесь и каковы Ваши требования, продукция компании Meiji Techno и профессионализм наших специалистов помогут Вам достичь ваших целей в области микроскопических методов исследования.

- Металлургические микроскопы
- Инвертированные микроскопы
- Поляризационные микроскопы
- Измерительные микроскопы
- Микроскопы для исследования асбеста
- Стереомикроскопы
- Макроскопы
- Геммологические микроскопы
- Биологические микроскопы
- Люминесцентные микроскопы

### WEST TECHNO

129075, Москва, ул. Шереметьевская 85, стр. 2  
тел.: +7 (495) 940-61-33, факс: +7 (495) 619-51-83  
[info@westtechno.ru](mailto:info@westtechno.ru), [www.westtechno.ru](http://www.westtechno.ru)

 **MEIJI  
TECHNO**  
Только для профессионалов



# ГАЛА ХИМ

**Компания ГалаХим предлагает полный спектр лабораторного оборудования и расходных материалов от ведущих производителей из Европы, США и Японии.**



**Химические реактивы**

**Фармацевтические, аналитические и рабочие стандарты**



**Все для хроматографии.**



**Фильтры, виалы.**

**Тест-полоски, экспресс-тесты.**



**Вспомогательные вещества для фармацевтической промышленности**

**Лабораторное и аналитическое оборудование, приборы, расходные материалы, стекло.**



**Только высокое качество, хорошие цены.  
Соответствие стандартам GMP и GLP.  
Гибкая система скидок.**

123100, г. Москва, Звенигородское шоссе, д. 3. тел/факс: (495) 253-3933; 253-3733  
E-mail: [galachem@galachem.ru](mailto:galachem@galachem.ru) [www.galachem.ru](http://www.galachem.ru)

Компания ООО “Биоген-Аналитика” основана в 2004 году и является

- авторизованным дилером *Beckman Coulter Int.S.A.* на территории России и стран СНГ - крупного производителя лабораторного, аналитического, биотехнологического и медицинского диагностического оборудования;
- официальным дилером фирмы **FUJIFILM** - оборудование и реактивы в области науки о жизни;
- официальным дилером фирмы **SEQUENOM, Inc.** – оборудование для качественного и количественного анализа генома с применением метода масс-спектрометрии.

Основными направлениями деятельности компании ООО “Биоген - Аналитика” (БГА) являются поставка, гарантийное и послегарантийное обслуживание, а также методическая поддержка.

Компания БГА имеет обученный персонал, методистов, специалистов по продажам. Все сервисные инженеры проходят ежегодную переподготовку в центрах фирм-производителей *Beckman Coulter Int.S.A.*, **FUJIFILM**, **SEQUENOM**.

Высококвалифицированный персонал компании помогает найти решение поставленных научных задач на современном уровне с использованием инновационных технологий и продуктов, обеспечивает высокий уровень технической поддержки и обслуживания клиентов. Наши клиенты — ведущие научно-исследовательские организации и медицинские центры России, стран СНГ.

Компания БГА осуществляет таможенную очистку и доставку оборудования до лаборатории клиента. У нас можно приобрести не только приборы, но и любые запасные части, расходные материалы и реагенты.

Сайт компании <http://www.bga.su/>

Контакты в Москве:

E-mail: [6609780@bga.su](mailto:6609780@bga.su)

Тел.: (495) 6609780, 6609781, 2209485, 9267632

Адрес: 115093 Москва, Партийный пер., д.1,  
корп. 58, стр.1, офис 34.

Контакты в Новосибирске:

E-mail: [bga@academ.org](mailto:bga@academ.org)

Тел./факс: (383) 3320749

Адрес: 630128 Новосибирск,  
Демакова, д.30, офис 413.





Более 50 лет **Миллипор** помогает исследователям во всем мире повышать эффективность и продуктивность работы в лаборатории, поставляя инновационные продукты и сервисные услуги, подкрепленные высочайшим уровнем качества. После недавнего приобретения корпорации Serologicals мы можем предложить широкий выбор **антител, продукции для исследования стволовых клеток, иммунодетекции белков, поиска новых лекарственных средств**, а также сервисные услуги.

Компания Millipore является традиционным производителем **мембран для блоттинга** из PVDF (Иммобилон-Р). Мембраны доступны со стандартным размером пор 0,45 мкм, а также с размером 0,22 мкм для небольших белков (менее 20 кДа) и продуктов секвенирования.

Мы так же рады представить Вам нашу НОВИНКУ - **устройство для ускорения блоттинга SNAP i.d.** Работа прибора основана на принципе вакуумной фильтрации. Используя SNAP i.d., Вы сможете провести блокировку и окрашивание мембраны всего за полчаса, при этом сэкономить на дорогостоящих антителах.



Millipore предлагает **системы для концентрации**, обессоливания и диафильтрации биологических образцов, содержащих антигены, антитела, ферменты, нуклеиновые кислоты и микроорганизмы. Используя устройства Amicon, Вы сможете осуществить высококачественную ультрафильтрацию за короткое время центрифугирования. Основой устройств Amicon Ultra является мембрана из восстановленной целлюлозы Ultracel, для которой характерно низкое связывание белка. Данная мембрана идеальна для концентрации и очистки белковых растворов, а также сложных образцов, таких как продукты ферментации и клеточные лизаты.

Доступность проточной цитометрии в течение долгого времени представляла собой проблему – для многих лабораторий этот метод казался слишком дорогим и технически сложным. Компания Millipore, приобретя **Guava Technologies**, решила изменить ситуацию. Ключевой идеей наших проточных цитометров стала простота в использовании, дешевизна и компактность при сохранении функциональности. Сердцем системы Guava является уникальная микрокапиллярная ячейка, элиминирующая необходимость в несущей жидкости. Это означает меньший расход образца и реагентов и минимальное количество отходов, что экономит Ваше время и деньги.



Имея более чем 40-летний опыт в разработке и производстве **систем очистки воды** для лабораторий, мы представляем, с какими трудностями сталкиваются исследователи в своей работе. Выпускаемые нами системы способны охватить весь диапазон прикладных задач: от ополаскивания посуды и питания лабораторного оборудования до получения сверхчистой воды без пирогенов и нуклеаз. Благодаря многоступенчатой очистке и применению запатентованных технологий, наши системы эргономичны, просты в эксплуатации и работают в автоматическом режиме, т.е. Вы всегда будете иметь необходимый объем воды требуемого качества. Это позволит Вам сфокусироваться на Ваших исследованиях и не отвлекаться на проблемы водоподготовки.

**Московское представительство фирмы «Миллипор С.А.С.» (Франция)**  
Тел/факс: +7 (495) 931-91-91/931-91-87  
117198, Москва, Ленинский проспект, 113/1, офис Е-718  
[www.millipore.com](http://www.millipore.com)

# ОБОРУДОВАНИЕ И НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ для молекулярно-биологической диагностики инфекционных болезней



## ■ АВТОМАТИЗАЦИЯ ВЫДЕЛЕНИЯ нуклеиновых кислот



### NucliSENS easyMAG

Высокопроизводительная универсальная автоматическая система для выделения нуклеиновых кислот (ДНК и РНК)

## ■ ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР в режиме «реального времени»

### Rotor-Gene 6000

**6-канальный анализатор для:**  
ПЦР | NASBA | HRM (плавление с высоким разрешением)  
в режиме реального времени



**BIO SAN**

### АЛА-1/4

Универсальный автоматический мультиканальный роторный анализатор для флуоресцентной детекции продуктов ПЦР по конечной точке (FEP) с уникальным программным обеспечением и интеграцией с ЛИС

• Упрощение процедуры

• Увеличение производительности

• Снижение риска контаминации

## ■ ДЕТЕКЦИЯ ПРОДУКТОВ ПЦР по конечной точке

## ■ НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ «АмплиСенс» для выявления возбудителей инфекционных болезней методом ПЦР

производства ФГУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора

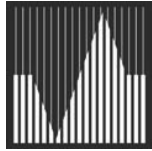
- Крупнейшее отечественное производство, сертифицированное по международным стандартам качества ИСО 9001 и ИСО 13485
- Прошли испытания в ГИСК им. Л.А. Тарасевича, разрешены к производству и применению на территории РФ
- Масштабное применение в клинической лабораторной диагностике в России и СНГ
- Широкий спектр выявляемых инфекций



105064, Москва • Б. Казенный пер., д. 10, стр. 3  
Тел.: (495) 925 0554 • Факс: (495) 916 1818

**ИнтерЛабСервис**

www.interlabservice.ru



**LAB**  
**Instruments**

Россия, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая,

д. 16/10, ИБХ РАН корп. 32, офис 306

Тел/факс: (495) 429-9922, 223-4815; тел: 762-0236

e-mail: [sales@labinstruments.ru](mailto:sales@labinstruments.ru)

[www.labinstruments.ru](http://www.labinstruments.ru)

Сфера деятельности компании «ЛабИнструментс» - поставка лабораторного оборудования, аналитических приборов, расходных материалов для научных исследований и производства.

Основные поставщики компании «ЛабИнструментс» - хорошо зарекомендовавшие себя американские и европейские производители: Labconco Corp., New Brunswick Scientific, Wheaton, VWR, Varian Inc., Guava Technologies. Это обеспечивает высокое качество поставляемой продукции и надежность предлагаемых технических решений.

Для лабораторий различного профиля мы предлагаем продукцию Labconco Corp.: шкафы биологической безопасности, перчаточные боксы для работы с чувствительными и опасными материалами, вытяжные шкафы, оборудование для сублимации и концентрирования, системы водоподготовки.

Комплексные решения для биохимии и биотехнологии основываются на предложениях компаний New Brunswick Scientific, Wheaton и включают шейкеры и шейкеры-инкубаторы, CO<sub>2</sub>-инкубаторы, низкотемпературные морозильники, биореакторы и ферментеры, начиная от лабораторных моделей и заканчивая промышленными, а также роллерные системы. Системы анализа клеток - проточные цитометры производства Guava Technologies, позволяют осуществлять мониторинг биопроцессов и изучать их механизмы.

Также мы эксклюзивно представляем интересы немецких производителей специализированных аналитических приборов – компаний Linseis GmbH и Heinz Walz GmbH. Компания Linseis предлагает полный спектр высококачественных приборов, комплексных систем и программного обеспечения для термического анализа металлов, полимерных и керамических материалов, фармацевтических субстанций. Узкоспециализированные измерительные приборы для изучения фотосинтеза и газообмена растений производства Heinz Walz находят применение в биологии, экологии, агрономии и растениеводстве.

Компания «ЛабИнструментс» осуществляет подбор вспомогательных приборов, расходных материалов для комплексного оснащения лабораторий на основе американского каталога VWR. VWR, являясь одним из крупнейших поставщиков на рынке общелабораторного оборудования, предлагает практически все, что необходимо для оснащения современной лаборатории, и мы особенно рекомендуем его для биохимиков, биологов и биотехнологов.

Коллектив нашей компании обладает большим опытом комплексного оснащения лабораторий научных учреждений, биотехнологических и фармацевтических производств. Ориентируясь на индивидуальный подход к покупателям, сотрудники компании по Вашей заявке помогут приобрести, доставить и ввести в эксплуатацию оборудование от производителей, не представленных на российском рынке.

Цель компании «ЛабИнструментс» - предложить нашему покупателю разнообразный ассортимент качественных товаров и профессиональный сервис.



## Компания **Диаэм**

с 1988 года поставляет оборудование, расходные материалы и реактивы для нужд биологических, химических, медицинских, пищевых лабораторий, фармацевтических и биотехнологических предприятий, контрольных лабораторий.

Ассортимент продукции **Диаэм** – более ста тысяч наименований – самый широкий на российском рынке:

- **Общелабораторное оборудование:**
  - центрифуги, морозильники до 152 С, холодильники, термостаты, гомогенизаторы, мешалки, весы, дозаторы, вытяжные и ламинарные шкафы, микроскопы, системы очистки воды, насосы, фильтрующие системы и пр.
- **Аналитическое оборудование:**
  - спектрофотометры, анализаторы влажности, рефрактометры, плотномеры, автоматические титраторы, хроматографы, кондуктометры, рН-метры и пр.
- **Биотехнологическое оборудование:**
  - ферментеры и биореакторы, шейкеры-инкубаторы, для микробиологии и культур клеток.
- **Оборудование для работ с ДНК, РНК:**
  - амплификаторы, секвенаторы, электрофорез, электропораторы, генные пушки, станции дозирования и выделения ДНК, системы гель-документирования и пр.
- **Оборудование для работ с белками:**
  - ультра фильтрация, блоттинг, электрофорез, системы хеми-документирования.
- **Оборудование для клеточной инженерии:**
  - микроманипуляторы, микродиссекторы, микроинъекторы.
- **Криотехника:**
  - криозамораживатели программируемые, криохранилища, сосуды Дюара.
- **Оборудование для органического синтеза:**
  - роторные испарители, реакторы химические одноместные и параллельные.
- **Испытательное оборудование:**
  - печи, климатические, испытательные камеры и пр.
- **Реактивы:**
  - стандартные растворы, растворители, среды, соли, ферменты, красители, индикаторы и пр.



**Диаэм** – официальный дилер мировых производителей продукции для лабораторий:

Eppendorf, Sanyo, Thermo, Infors, Biospringer, Binder, Bio-Rad, Applera, Milele, Sigma-Aldrich-Fluka, Corning, Heidolph, Mettler Toledo, Olympus, Nikon и др.

Сборник трудов научной конференции  
**«Химическая биология –  
Фундаментальные проблемы бионанотехнологии»**,

посвященной 25-летию  
Института химической биологии и фундаментальной  
медицины СО РАН

10 – 14 июня 2009 г. Новосибирск

*Издание сборника осуществлено при поддержке РФФИ  
(грант № 09-04-06059-г)*

Подготовка оригинал-макета, редактирование  
*Кабиров М.Р.*

Корректоры  
*Пышная И.А., Виноградова О.А., Дмитриенко Е.В.*

Дизайн обложки  
*Исаев В.В.*

Подписано к печати 22 мая 2009 г.  
Формат 165x240. Бумага офсетная. Печать офсетная.  
Тираж 188 экз.

ООО "Издательство АРТА". 630058, г. Новосибирск, ул. Русская 39, офис 630, 632