



І РЕГИОНАЛЬНОЕ СОБРАНИЕ РФО
И ВСЕРОССИЙСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ФОТОБИОЛОГИИ И БИОФОТОНИКИ

14-19 ОКТЯБРЯ 2024
НИЖНИЙ НОВГОРОД

Российское фотобиологическое общество
Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«Национальный исследовательский Нижегородский государственный
университет им. Н.И. Лобачевского»
Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии
наук – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

**I региональное собрание РФО и
Всероссийская конференция с
международным участием
«Современные проблемы фотобиологии и
биофотоники»**

14 – 19 октября 2024 г.

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

Нижний Новгород, 2024

УДК 577.345:577.344

ББК 28.071

P32

P32 I региональное собрание РФО и Всероссийская конференция с международным участием «Современные проблемы фотобиологии и биофотоники» Сборник тезисов.

Нижний Новгород: ННГУ им. Н.И. Лобачевского, 2024. – 291 с.

ISBN 978-5-6050635-1-3

С 14 по 17 октября 2024 года на базе ННГУ им. Н.И. Лобачевского в Нижнем Новгороде проходило I региональное собрание РФО и Всероссийская конференция с международным участием «Современные проблемы фотобиологии и биофотоники». В настоящем сборнике представлены тезисы 143 докладов участников по следующим направлениям:

- Фотосинтез и фоторецепция: от молекулы до организма;
- Фундаментальные основы фотодинамической, лазерной и PUVA терапии;
- Биофотоника: технологии и прикладные исследования;
- Биолюминесценция и флуоресцентные белки;
- Микроводоросли как преобразователи солнечной энергии для «зеленой» энергетики, фотобиология водных экосистем.

Публикуется в авторской редакции

УДК 577.345:577.344

ББК 28.071

ISBN 978-5-6050635-1-3

© Коллектив авторов

© Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОРГАНИЗАТОРЫ	4
ОБРАЩЕНИЕ К УЧАСТНИКАМ	7
ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ	
Секция 1. Фотосинтез и фоторецепция: от молекулы до организма	9
Секция 2. Фундаментальные основы фотодинамической, лазерной и PUVA терапии	117
Секция 3. Биофотоника: технологии и прикладные исследования	163
Секция 4. Биолуминесценция и флуоресцентные белки	236
Секция 5. Микроводоросли как преобразователи солнечной энергии для «зеленой» энергетики, фотобиология водных экосистем	252
АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ	280
СПОНСОРЫ И ПАРТНЕРЫ	286

ОРГАНИЗАТОРЫ

Российское фотобиологическое общество

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

СОСТАВ ПРОГРАММНОГО КОМИТЕТА

Председатель программного комитета

д.б.н. *Борисова Мария Мансуровна*,
Институт фундаментальных проблем биологии РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН

Заместители председателя программного комитета

д.б.н. *Семенов Алексей Юрьевич*,
НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского, МГУ им. М.В. Ломоносова

к.б.н. *Сухов Владимир Сергеевич*,
ИББМ, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

Члены программного комитета

д.б.н. *Антал Тарас Корнелиевич*,
Псковский государственный университет

д.б.н. *Воденеев Владимир Анатольевич*,
ИББМ, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

проф., к.б.н. *Высоцкий Евгений Степанович*,
ФИЦ Красноярский научный центр СО РАН

проф., д.х.н. *Грин Михаил Александрович*,
«МИРЭА – Российский технологический университет»

к.б.н. *Коппель Лариса Алексеевна*,
Биологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова

к.б.н. *Котова Елена Аврамовна*,
НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского, МГУ им. М.В. Ломоносова

проф. д.б.н., *Красновский Александр Александрович*,
ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН

д.б.н. *Мамедов Махир Джафарович*,
НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского, МГУ им. М.В. Ломоносова

проф., д.х.н. *Надточенко Виктор Андреевич*,
директор ФИЦ Химической физики им. Н.Н. Семенова РАН

к.б.н. *Неверов Константин Викторович*,
ИНБИ РАН, ФИЦ Биотехнологии РАН

д.б.н. *Соловченко Алексей Евгеньевич*,
Биологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова

к.б.н. *Сироткина Марина Александровна*,
НИИ ЭО и БМТ, ПИМУ

чл.-корр. РАН, д.ф.-м.н. *Тучин Валерий Викторович*,
Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского

д.б.н. *Цыганков Анатолий Анатольевич*,
Институт фундаментальных проблем биологии РАН ФИЦ ПНЦБИ РАН

СОСТАВ ОРГАНИЗАЦИОННОГО КОМИТЕТА

Председатель организационного комитета

к.б.н. *Сухов Владимир Сергеевич*,
ИББМ, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

Заместитель председателя организационного комитета

к.б.н. *Ветошкина Дарья Васильевна*,
Институт фундаментальных проблем биологии РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН

Члены организационного комитета

к.б.н. *Балалаева Ирина Владимировна*,
ИББМ, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

д.б.н. *Ведунова Мария Валерьевна*,
ИББМ, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

к.б.н. *Войцеховская Ольга Владимировна*,
Лаборатория молекулярной и экологической физиологии,
Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН

к.б.н. *Надеева Елена Михайловна*,
Институт фундаментальных проблем биологии РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН

к.б.н. *Тютерева Елена Владимировна*,
Лаборатория молекулярной и экологической физиологии,
Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН

к.ф.-м.н. *Турчин Илья Викторович*,
Лаборатория биофотоники, ИПФ РАН

к.б.н. *Хорошаева Татьяна Петровна*,
Институт фундаментальных проблем биологии РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН

СОСТАВ ЛОКАЛЬНОГО КОМИТЕТА

Ученый секретарь конференции и председатель локального комитета

к.б.н. *Юдина Любовь Михайловна*,
ИББМ, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

Члены локального комитета

к.б.н. *Акинцянц Елена Константиновна*,
ИББМ, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

к.б.н. *Брилкина Анна Александровна*,
ИББМ, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

к.б.н. *Синицына Юлия Витальевна*,
ИББМ, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

м.н.с. *Тюрин Марина Газинуровна*,
ИББМ, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

к.б.н. *Шерстнева Оксана Николаевна*,
ИББМ, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

к.б.н. *Шилягина Наталья Юрьевна*,
ИББМ, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

Проведение конференции поддержано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2022-293 от 15.04.2022 г. о создании и развитии научного центра мирового уровня «Центр фотоники»)

ОБРАЩЕНИЕ К УЧАСТНИКАМ

Глубокоуважаемые коллеги!
Дорогие друзья!

Мы рады приветствовать вас на I региональном собрании РФО и Всероссийской конференции с международным участием «Современные проблемы фотобиологии и биофотоники», которые проводятся на базе Нижегородского отделения Российского фотобиологического общества в ННГУ им. Н.И. Лобачевского с 14 по 19 октября 2024 г. Такой формат конференции является новым для нас, но мы надеемся, что он окажется успешным и конференции на базе региональных отделений РФО в будущем станут важным форумом для обсуждения новых результатов и интересных идей.

В работе регионального собрания и всероссийской конференции примут участие более 150 человек. В ходе конференции будут представлены достижения ведущих ученых в области фотосинтеза, фотобиологии, биофотоники и биолюминесценции. Ожидается, что в рамках конференции будет заслушано 79 устных докладов, включая 12 пленарных; будет проведена стендовая сессия. На конференции будут также представлены доклады и мастер-классы ведущих поставщиков научного оборудования в России, посвященные работе с новыми оптическими системами для исследования живых систем.

Основные направления работы конференции:

1. Фотосинтез и фоторецепция: от молекулы до организма
2. Фундаментальные основы фотодинамической, лазерной и PUVA терапии
3. Биофотоника: технологии и прикладные исследования
4. Биолюминесценция и флуоресцентные белки
5. Микроводоросли как преобразователи солнечной энергии для «зеленой» энергетики, фотобиология водных экосистем

В рамках конференции пройдет традиционный конкурс молодых ученых. В конкурсе примут участие молодые ученые в возрасте до 35 лет включительно, выступающие как с устными, так и со стендовыми докладами.

Надеемся, что I региональное собрание и конференция станут плодотворными и успешными, наполненными научными дискуссиями и новыми идеями, что они помогут развитию научного сотрудничества и реализации совместных работ. И пусть все вместе это приведет к новым творческим успехам и научным открытиям, передовым направлениям исследований и росту научного уровня в целом. Желаем всем участникам активной и творческой работы, интересных дискуссий и хорошего настроения! Рады видеть вас в Нижнем Новгороде!

Председатель программного комитета Президент РФО

М.М. Борисова-Мубаракшина

Председатель организационного комитета Вице-президент РФО

В.С. Сухов

Секция 1. Фотосинтез и фоторецепция: от молекулы до организма

ГИПЕРПОЛЯРИЗАЦИОННЫЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СИГНАЛЫ ВЫЗЫВАЮТ ИЗМЕНЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ ФОТОСИНТЕЗА У ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ, ВЫРАЩЕННОЙ В КОНТРОЛИРУЕМЫХ УСЛОВИЯХ

Hyperpolarization electrical signals cause changes in the parameters of the photosynthesis in spring wheat grown under controlled conditions

Абашева К.Р., Попова А.Ю., Сухова Е.М., Сухов В.С., Юдина Л.М.*

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»,
Нижний Новгород, Россия

**e-mail: karinarutter@yandex.ru, тел. +7 982 1159385*

В естественных условиях на растения оказывает воздействие большое количество факторов, как локальных, так и системно действующих. При этом, сильные их изменения зачастую губительны для растений. Чтобы приспособиться к изменяющимся условиям у растений имеются способы передачи информации между разными частями, такие как электрические сигналы. Известно, что такие сигналы способны влиять на различные физиологические процессы, в том числе на фотосинтез. Чтобы изучить феноменологию ответов растений на различные стрессоры и их комбинации, прежде всего необходимы лабораторные эксперименты, с контролируемыми условиями. Поэтому целью данной работы стало изучение влияния электрических сигналов на фотосинтетические параметры пшеницы, выращенной в контролируемых условиях.

Эксперимент проводили на яровой пшенице (*Triticum aestivum* L.), которая выращивалась при 24°C и 16-часовом световом дне в лабораторных условиях. Полив растений осуществлялся через день, для создания почвенной засухи полив прекращался. Индукция электрических сигналов осуществлялась локальным воздействием умеренным повышением температуры совместно с синим светом. Электрическую активность регистрировали с помощью макроэлектродов и усилителя ИПЛ-113. Измерение параметров фотосинтеза проводили с использованием РАМ-флуориметра Open FluorCam FC 800-O/1010. В отдельной серии экспериментов проводили опрыскивание растений фитогормоном АБК для проверки модификации ответов фотосинтеза.

Было показано, что совместное действие локального умеренного нагрева и освещения приводит к распространению гиперполяризационных электрических сигналов по листу пшеницы, дальность распространения – 9 см от зоны воздействия. Умеренная почвенная засуха слабо снижает амплитуду сигналов. Сильная почвенная засуха, существенно снижает амплитуду гиперполяризационных сигналов, возрастает доля растений с отсутствием сигнала.

Стимуляция приводит к развитию фотосинтетических ответов (снижению квантового выхода фотосистемы II и возрастанию нефотохимического тушения) вблизи зоны воздействия. На больших расстояниях от места воздействия ответы фотосинтеза не наблюдались. Умеренная почвенная засуха вызывает смещение пространственной локализации изменений, фотосинтетические ответы наблюдаются на расстояниях 5-9 см от зоны стимуляции. Сильная засуха подавляет выявленные ответы, что согласуется со снижением амплитуды гиперполяризационных сигналов.

Предварительная обработка растений АБК приводила к увеличению амплитуды фотосинтетических ответов при поливе и умеренной засухе. Этот результат предварительно показывает, что ответы растений на электрические сигналы можно модифицировать с помощью фитогормонов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 21-74-10088.

**ПАРАМЕТРЫ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В КАЧЕСТВЕ
ПРЕДИКТОРОВ УСТОЙЧИВОСТИ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ
К ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХЕ**

**Parameters of photosynthetic activity as predictors of wheat seedling tolerance
to soil drought**

*Абдуллаев Ф.Ф. *, Чурикова Д.М., Шерстнева О.Н.*

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

**e-mail: abdullaev.aab@mail.ru, тел. +7 930 2732418*

Одним из перспективных направлений оптимизации технологии селекционного процесса является включение этапа лабораторного фенотипирования в процесс отбора [1-2]. Основанный на технологии импульсной амплитудной модуляции (РАМ) флуоресцентный имиджинг – высокоинформативный метод фенотипирования, позволяющий регистрировать флуоресценцию хлорофилла а для определения состояния фотосинтетического аппарата [3].

Целью исследования являлась оценка показателей флуоресценции хлорофилла а в качестве предикторов устойчивости к засухе у проростков пшеницы. Объекты исследования – проростки пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.), выращенные в вегетационной комнате (температура – 24°C, относительная влажность воздуха – 50%, фотопериод – 16/8 ч). Флуоресцентные параметры хлорофилла а регистрировались с помощью систем РАМ-имиджинга – Open FluorCam FC 800-O/1010-S (Photon Systems Instruments, Чехия) и Plant Explorer Pro+ (Phenovation B.V., Нидерланды).

Измерение флуоресценции у проростков пшеницы производилось в возрасте 14 дней, после чего растения разделили на две группы. Опытная группа была подвергнута почвенной засухе путём прекращения полива, а у контрольной условия не менялись. В возрасте 24 дней (после 10-дневной почвенной засухи у опытной группы) у исследуемых растений вновь регистрировались параметры флуоресценции, после чего измерялись морфометрические показатели. Устойчивость к засухе оценивалась с использованием Индекса засухоустойчивости, определяемого по отношению сухого веса растений, подвергшихся засухе, к контрольным.

Корреляционный анализ показал статистически значимую ($p < 0,05$) отрицательную корреляцию Индекса засухоустойчивости с максимальным квантовым выходом фотосистемы II, регистрируемым после темновой адаптации, а также с эффективным квантовым выходом

фотосистемы II и коэффициентом фотохимического тушения в адаптированном к свету состоянии.

Выявленные в результате исследований параметры флуоресценции хлорофилла а свидетельствуют о перспективности их применения для прогнозирования засухоустойчивости у проростков пшеницы. Отбор наиболее перспективных генотипов на ранней стадии развития растений на основе данных оптического фенотипирования позволит существенно сократить количество вариантов, направляемых на последующие этапы отбора.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00212.

Литература.

1. Yang W, Feng H, Zhang X, Zhang J, Doonan JH, Batchelor WD, Xiong L, Yan J. Crop Phenomics and High-Throughput Phenotyping: Past Decades, Current Challenges, and Future Perspectives. *Mol Plant*. 2020 Feb 3;13(2):187-214. doi: 10.1016/j.molp.2020.01.008.
2. Parent B, Shahinnia F, Maphosa L, Berger B, Rabie H, Chalmers K, Kovalchuk A, Langridge P, Fleury D. Combining field performance with controlled environment plant imaging to identify the genetic control of growth and transpiration underlying yield response to water-deficit stress in wheat. *J Exp Bot*. 2015 Sep;66(18):5481-92. doi: 10.1093/jxb/erv320.
3. Lawson T, Violet-Chabrand S. Chlorophyll Fluorescence Imaging. *Methods Mol Biol*. 2018;1770:121-140. doi: 10.1007/978-1-4939-7786-4_8.

**МОДЕЛИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СВЕТОСОБИРАЮЩИХ КОМПЛЕКСОВ И
БАКТЕРИОФИТОХРОМОВ *RHODOPSEUDOMONAS PALUSTRIS***

**Models of interaction of light-harvesting complexes and bacteriophytochromes of
*Rhodopseudomonas palustris***

Абдуллатыпов А.В.^{1,2}

¹Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр
биологических исследований Российской академии наук»,
Пушино, Россия

²Тульский государственный университет, Тула, Россия

e-mail: azatik888@yandex.ru, *тел.* +7 925 1723751

Пурпурная несерная бактерия *Rhodopseudomonas palustris* обладает очень высокой экологической пластичностью, в которой центральную роль играет высокая адаптивность её фотосинтетического аппарата. Было показано, что в её хроматофорах, наряду с реакционными центрами и светособирающими комплексами, присутствует жёлтый белок с максимумами поглощения 682 и 776 нм, характерными для бактериофитохрома [1].

Для выявления взаимодействия между бактериофитохромом и периферическими светособирающими комплексами (LH2, LH3, LH4) проводился белок-белковый докинг на сервере ClusPro [2] и последующий анализ белок-белковых взаимодействий и расстояний между хромофорами в программе YASARA Structure [3]. Модели трёхмерной структуры светособирающих комплексов LH2, LH3, LH4, построенные методом молекулярного замещения на основе рентгеноструктурных данных для LH2-комплекса *Rhodopseudomonas acidophila* [4], выступали в роли рецептора, а в роли лиганда использовали кристаллические структуры бактериофитохромов 2,3 и 4 [5-6]. LH2 взаимодействует с бактериофитохромами только N-концевыми участками, которые находятся на внешней стороне мембраны (то есть, взаимодействие физиологически не релевантно); для LH3 было показано взаимодействие через C-концевые участки, и расстояние от бактериохлорофилла до биливердина составляло 20.4, 20.0 и 9.9 ангстрем для бактериофитохромов 1,2 и 3. Для LH4 эти расстояния составили 30.3, 16.9 и 19.8 ангстрем. Таким образом, физиологически релевантные взаимодействия между комплексами LH3 и LH4 и бактериофитохромами теоретически возможны.

Литература.

1. Сердюк О. П., Смолыгина Л.Д., Христин М.С. Мембранносвязанный бактериофитохром-подобный комплекс фототрофной пурпурной несерной бактерии *Rhodospseudomonas palustris* // Доклады Академии Наук. — 2018. – Т. 482. № 6. doi: 10.1134/S1607672918050149
2. Desta I.T., Porter K.A., Xia B., Kozakov D., Vajda S. Performance and Its Limits in Rigid Body Protein-Protein Docking. *Structure*, 28 (9):1071-1081 (2020) doi: 10.1016/j.str.2020.06.006
3. Krieger E., Dunbrack R.L. Jr, Hooft R.W., Krieger B. Assignment of protonation states in proteins and ligands: combining pKa prediction with hydrogen bonding network optimization. *Methods Mol Biol.* 819: 405-421 (2012) DOI: 10.1007/978-1-61779-465-0_253
4. Papiz MZ, Prince SM, Howard T, Cogdell RJ, Isaacs NW. The structure and thermal motion of the B800-850 LH2 complex from *Rps.acidophila* at 2.0Å resolution and 100K: new structural features and functionally relevant motions. *J Mol Biol.* 2003 Mar 7;326(5):1523-38. doi: 10.1016/s0022-2836(03)00024-x. PMID: 12595263.
5. Yang X., Stojković E.A., Ozarowski W.B., Kuk J., Davydova E., Moffat K. Light Signaling Mechanism of Two Tandem Bacteriophytochromes. *Structure*, 23(7):1179-1189 (2015) DOI: 10.1016/j.str.2015.04.022
6. Yang X., Stojkovic E.A., Kuk J., Moffat K. Crystal structure of the chromophore binding domain of an unusual bacteriophytochrome, RpBphP3, reveals residues that modulate photoconversion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104(30): 12571-12576 (2007) DOI: 10.1073/pnas.0701737104

**КРОСС-ТОК МЕЖДУ ФИТОХРОМНЫМ И РЕТРОГРАДНЫМ СИГНАЛИНГОМ У
КАРТОФЕЛЯ (*SOLANUM TUBEROSUM* L.)**

**Cross-talk between phytochrome and retrograde signals in potato
(*Solanum tuberosum* L.)**

*Андреев Г.В.**, *Лыкова Т.Ю.*, *Муртузова А.В.*,
Тютерева Е.В., *Войцеховская О.В.*

Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской Академии Наук,
Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: GAndreev@binran.ru, тел. +7 950 0020334

Фоторецепторы – фитохромы и криптохромы – принимают непосредственное участие в формировании ответных реакций фотосинтетического аппарата растений как на изменения спектрального состава падающего света, так и на ряд стрессовых воздействий, например, температурный или световой стрессы [1, 2]. Хорошо известно, что стехиометрия ФС1 и ФС2, распределение ССК2 между фотосистемами, а также формирование гран зависят от преобладания в спектре красного (КС) («свет 2») или дальнего красного (ДКС) («свет 1») света; при этом для каждого светового режима активируются свои ядерные и хлоропластные гены, которые находятся под контролем ретроградных пластидных сигналов [3]. Имеются сообщения о продукции синглетного кислорода в хлоропластах растений, выращиваемых при повышении доли ДКС [4]. В то же время, имеется мало данных о том, какие изменения претерпевает фотосинтетический аппарат при длительной экспозиции растений на свету с увеличением доли ДКС, как эти изменения могут сказаться на потоке ретроградных пластидных сигналов, и могут ли эти сигналы влиять на состояние пула фоторецепторов.

Мы использовали растения *Solanum tuberosum* сорта Désirée, дикий тип и линии Dara-5 и Dara-12, экспрессирующие кДНК фитохрома В *Arabidopsis thaliana* AtPhyВ под контролем промотора 35S, выращиваемые в стерильной культуре на агаризованной среде MS с добавлением сахарозы и витаминов при интенсивности светодиодного освещения 70 мкмоль ФАР/м²с и соотношении КС/ДКС=10 (контроль) в режиме свет 16 ч/темнота 8 ч. В эксперименте использовалось такое же освещение, но с добавлением ДКС (КС/ДКС=0,3); экспозиция составляла 7 дней. В листьях изучали накопление ¹O₂ и пероксидов с помощью флуоресцентных зондов. Оценивали восстановленность пула пластохинонов [5]. Содержание ФС1 и ФС2 оценивали с помощью методов измерения флуоресценции

хлорофилла. Для оценки содержания белка фитохрома был адаптирован метод выделения высокомолекулярных белков с последующим иммуноблоттингом. Содержание белков фотосинтетических комплексов также оценивали с помощью иммуноблоттинга.

Полученные результаты обсуждаются в контексте кросс-тока фитохромных и пластидных сигналов.

Литература.

1. Kreslavski V.D. et al. (2020) Deficiencies in phytochromes A and B and cryptochrome 1 affect the resistance of the photosynthetic apparatus to high-intensity light in *Solanum lycopersicum*, *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 210:111976.
2. Kreslavski V.D. et al. (2021) Effect of high-intensity light and UV-B on photosynthetic activity and the expression of certain light-responsive genes in *A. thaliana* phyA and phyB mutants, *BBA-Bioenergetics*, 1862:148445.
3. Pfannschmidt, T., Nilsson, A., Allen, J. (1999) Photosynthetic control of chloroplast gene expression, *Nature* 397:625–628.
4. McKenzie-Gopsill A.G. et al. (2019) Early physiological and biochemical responses of soyabean to neighbouring weeds under resource-independent competition. *Weed Research* 59:288-299.
5. Kramer D.M. et al. New fluorescence parameters for the determination of QA redox state and excitation energy fluxes, *Photosynth Res* 79:209–218.

РАЗРАБОТКА МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ВЛИЯНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ С НИЗКОЙ АМПЛИТУДОЙ НА НЕФОТОХИМИЧЕСКОЕ ТУШЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА

Development of a mathematical model of the effect of low-amplitude electrical signals on non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence

Андрюшаев Л.Е., Юдина Л.М., Сухова Е.М., Сухов В.С.

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

**e-mail: andoverleanid@yandex.ru, тел. +7 924 7924790*

Электрические сигналы (ЭС) у высших растений регулируют важнейшие процессы, обеспечивая быстрые физиологические ответы на локальное воздействие неоптимальных температур, света, механической и химической стимуляции и других неблагоприятных факторов. Различают гиперполяризационные электрические сигналы, включая системный потенциал, и деполяризационные электрические сигналы, включая переменный потенциал и потенциал действия. Одной из функций ЭС является регуляция фотосинтеза, включая индукцию повышения нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла (NPQ), которое обеспечивает защиту фотосинтетического аппарата от фотоповреждения при действии неблагоприятных факторов. Влияние ЭС на NPQ является важным механизмом повышения устойчивости фотосинтетического аппарата и растения в целом, вследствие чего механизмы такого влияния требуют комплексного изучения.

Однако механизмы генерации и распространения ЭС, а также пути их взаимодействия с фотосинтетическими процессами имеют сложный характер, что затрудняет анализ таких механизмов на основании экспериментальных результатов. Эти ограничения особенно актуальны для деполяризационных и гиперполяризационных сигналов с низкой амплитудой (менее 10-20 мВ), так такие сигналы наиболее чувствительны к состоянию растений. Разработка математических моделей электрических сигналов и их влияния на фотосинтетические процессы является потенциальным способом исключить эти ограничения, поскольку это дает возможность обеспечить нужную степень детализации описания для исследования конкретной проблемы. Таким образом, целью нашей работы стала разработка математической модели распространения ЭС с низкой амплитудой и анализ их влияния на NPQ.

Была разработана математическая модель ЭС и их влияния на NPQ хлорофилла. Модель опиралась на ранее предложенное электрофизиологическое описание клетки, которое было модифицировано путем описания активируемых давлением механочувствительных Ca^{2+} каналов и ингибирующего влияния Ca^{2+} на K^+ -каналы внутреннего выпрямления (IRK-каналы). Для описания распространения ЭС, был разработан блок модели, имитирующий распространение гидравлической волны вдоль растения. NPQ было описано на основании модифицированной модели Farquhar–von Caemmerer–Berry; описание включало в себя влияние изменений внутри- и внеклеточного pH на фотосинтетические процессы и, как следствие, на NPQ.

Результаты анализ модели хорошо соответствовали ранее полученным экспериментальным результатам, включая зависимость типа ЭС от силы стимула, расстояния от зоны раздражения и содержания воды в растении, которое может быть связано с развитием засухи. Также было выявлено, что распространение сигналов вызывало возрастание NPQ, что соответствовало ранее полученным результатам. При этом, выявленный эффект наблюдался также в условиях действия подпороговых стрессоров и распространении гиперполяризационных и деполяризационных сигналов с малой амплитудой.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 21-74-10088.

ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ АНТЕННЫ ФОТОСИСТЕМЫ 2 В РАСТЕНИЯХ ЯЧМЕНЯ (*HORDEUM VULGARE*) В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ И ЗАСУХИ

Functioning changes of the antenna of photosystem II in barley plants (*Hordeum vulgare*) during salinity and drought

Балашов Н.В., Маркин Р.В., Ветошкина Д.В.,
Иванов Б.Н., Борисова-Мубаракшина М.М.*

Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»,
Институт Фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

*e-mail: kbalashovv@mail.ru, тел. +7 985 7237580

Регулирование поглощения и использования солнечного света растениями представляет собой один из важнейших механизмов адаптации фотосинтезирующих организмов к изменяющимся условиям внешней среды, что обеспечивает нормальный рост и развитие растений в тех или иных условиях. Нами была исследована способность растений ячменя (*Hordeum vulgare*) регулировать количество поглощаемой и используемой световой энергии в условиях засухи (при прекращении полива растений) и засоления почвы (при поливе 200 мМ раствором NaCl раз в три дня) в течение 10 дней.

Было найдено, что в растениях, подвергавшихся засолению, в течение первых 7-ми дней происходило уменьшение видимого размера антенны ФС II, который оценивался как величина параметра ABS/RC, рассчитываемого из ОЛР-кривых флуоресценции хлорофилла *a* листьев, уменьшение количества антенного белка Lhcb2 и увеличение способности к диссипации энергии в тепло. Кроме того, наблюдалось частичное ингибирование процесса state transitions в течение первых 6-ти дней, что выражалось в уменьшении количества фосфорилированных белков антенны ФСII Lhcb2-P и Lhcb1-P; ингибирование также было подтверждено и с помощью измерений низкотемпературной флуоресценции хлорофилла *a* и измерений флуоресценции хлорофилла *a* при комнатной температуре. При этом не наблюдали изменений ни в максимальном квантовом выходе ФСII, величине Fv/Fm, определяемой из ОЛР-кривых флуоресценции, ни в количестве белка D1 реакционного центра ФС II. Параметры, характеризующие размер антенны, диссипацию энергии в тепло и процесс state transitions, через 7 дней пребывания

растений в условиях засоления возвращались к значениям в растениях, не подвергавшихся засолению.

В условиях засухи наблюдается более медленное, чем в условиях засоления, развитие части описанных изменений. Увеличение способности к диссипации энергии в тепло происходило на 7-ой день, снижение параметра ABS/RC проявлялось на 9-ый день, а уменьшение количества антенного белка Lhcb1 на 10 день. Ингибирование state transitions, а именно уменьшение фосфорилированных белков Lhcb1-P и Lhcb2-P, проявлялось на 10 день, в то время как данные, полученные с помощью измерений флуоресценции хлорофилла *a* при комнатной температуре, демонстрируют ингибирующий эффект на 7 день, а данные измерений низкотемпературной флуоресценции хлорофилла *a* вообще не выявляют ингибирующего эффекта. В отличие от засоления, на 10-ый день происходит уменьшение количества белка D1 реакционного центра ФС II.

Полученные результаты показали, что при продолжительных воздействиях засоления и засухи наблюдаются уменьшение размера антенны ФСII, увеличение способности к диссипации энергии в тепло, а также ингибирование state transitions, т.е. процессы, которые происходят при действии высокой интенсивности света. При этом время наступления перечисленных изменений для фотосинтетического аппарата различается у растений, подверженных условию засоления и условию засухи.

**ФОТОИНДУЦИРОВАННОЕ ОБРАЗОВАНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ
ГИДРОПЕРЕКИСЕЙ В СВЕТОСОБИРАЮЩИХ КОМПЛЕКСАХ LH2 ИЗ
ПУРПУРНЫХ СЕРЫХ БАКТЕРИЙ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ ИХ СВЕТОМ,
ПОГЛОЩАЕМЫМ КАРОТИНОИДАМИ**

**Photo-induced formation of organic hydroperoxides in light-harvesting LH2
complexes from purple sulfur bacteria upon irradiation with light
absorbed by carotenoids**

*Большаков М.А.**, Яныкин Д.В., Ашихмин А.А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН,
Московская область, Пущино

*e-mail: lfbv22@gmail.com

Ранее, было обнаружено, что при действии сине-зеленого света на препараты комплексов LH2 из *Alc. minutissimum* и *Ect. haloalkaliphila* наблюдалось уменьшение амплитуды полосы поглощения БХл850, одновременно с этим происходило образование продукта окисления БХл – 3-ацетил-хлорофилла, с максимумом поглощения при 698 нм [1, 2]. В данной работе обсуждается возможность того, что каротиноид-зависимая фотогенерация активных форм кислорода в светособирающих комплексах LH2 *Ect. haloalkaliphila* и *Alc. minutissimum* приводит к образованию органических гидроперекисей и повреждению, как пигментов, так и белкового матрикса.

Работа выполнена при поддержке РНФ проект № 23-24-00362 (<https://rscf.ru/project/23-24-00362/>).

Литература.

1. Yanykin D, Paskhin M, Ashikhmin AA, Bolshakov MA. 2024. Carotenoid-dependent singlet oxygen photogeneration in light-harvesting complex 2 of *Ectothiorhodospira haloalkaliphila* leads to the formation of organic hydroperoxides and damage to both pigments and protein matrix. *PeerJ* 12:e16615 <https://doi.org/10.7717/peerj.16615>
2. Makhneva, Zoya K., Maksim A. Bolshakov, and Andrey A. Moskalenko. 2021. "Carotenoids Do Not Protect Bacteriochlorophylls in Isolated Light-Harvesting LH2 Complexes of Photosynthetic Bacteria from Destructive Interactions with Singlet Oxygen" *Molecules* 26, no. 17: 5120. <https://doi.org/10.3390/molecules26175120>

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ АДАПТАЦИИ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ К ВОЗДЕЙСТВИЮ ПОНИЖЕННЫХ ТЕМПЕРАТУР: РОЛЬ АЛЬТЕРНАТИВНОЙ ОКСИДАЗЫ МИТОХОНДРИЙ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОСИНТЕЗА

Mechanisms of higher plants' adaptation to low temperatures: the role of mitochondrial alternative oxidase in ensuring photosynthesis efficiency

Бразжникова А.В.^{1,2}, Балашов Н.В.¹,
Найдов И.А.¹, Борисова-Мубаракишина М.М.¹*

¹Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия

²Биотехнологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

**e-mail: brazhnikovanastasia@yandex.ru*

Альтернативные пути транспорта электронов в хлоропластах и митохондриях играют важную роль в поддержании устойчивости растений. Влияние изменений активности митохондриальных альтернативных путей на протекание фотосинтеза в стрессовых условиях остаётся недостаточно изученным. Митохондрии многих организмов, в частности высших растений, содержат нечувствительную к цианиду альтернативную оксидазу (АОХ), активность которой усиливается в условиях стресса, что предотвращает генерацию активных форм кислорода в митохондриальной электрон-транспортной цепи и, следовательно, развитие окислительного стресса.

В настоящей работе, используя растения *Arabidopsis thaliana* дикого типа и мутантные растения с гиперэкспрессией, подавлением экспрессии (antisense растения) и нокаутом гена АОХ (SALK-084897), оценивали влияние изменений содержания АОХ митохондрий на протекание фотосинтеза при пониженной температуре (6°C). Через 10 дней при 6°C наблюдалось небольшое, но статистически значимое снижение квантового выхода ФС 2 в растениях дикого типа и растениях с нокаутом АОХ, тогда как в мутантных растениях этот показатель возрастал, особенно у растений AS12 с пониженным содержанием АОХ. При 6°C у всех генотипов увеличивалась скорость циклического транспорта электронов вокруг ФС 1 по сравнению со скоростью, измеренной при 21°C. Коэффициент нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла *a* (qN) у мутантных линий XX2 и AS12 оставался на том же уровне, что и при контрольной температуре, в то время как у дикого типа и растений с

нокаутом АОХ он снижался, указывая на частичную потерю способности к диссипации энергии в тепло. Это означает, что растения дикого типа и без АОХ частично теряли способность рассеивать энергию в тепло при низкой температуре, а мутанты с измененным содержанием АОХ – нет. Кроме того, к 10 дню эксперимента было обнаружено увеличение содержания H_2O_2 только в листьях растений дикого типа и растений с нокаутом АОХ. Было определено, что экспрессия генов *aox1a*, играющего роль в защите митохондрий от активных форм кислорода в ответ на биотические стрессовые факторы, и экспрессия гена *aox2*, регулирующего окислительно-восстановительные процессы в клетке, возрастает только в растениях дикого типа.

Таким образом, интенсивность фотосинтеза при пониженной температуре не изменяется в растениях с гиперэкспрессией или подавленной экспрессией АОХ, но снижается в растениях дикого типа и с заблокированным синтезом АОХ. Высказано предположение, что изменение содержания АОХ представляет собой сигнал, необходимый для поддержания фотосинтеза при пониженной температуре.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 23-14-00396); <https://rscf.ru/project/23-14-00396/>

СРАВНЕНИЕ STATE TRANSITIONS В АРАБИДОПСИСЕ И ЯЧМЕНЕ

Comparison of state transitions in arabidopsis and barley

*Ветошкина Д.В. *, Проскуряков И.И., Козулева М.А., Терентьев В.В., Бережнов А.В., Найдов И.А., Иванов Б.Н., Борисова-Мубаракишина М.М.*

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального исследовательского центра «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»,
Пушино, Россия

**e-mail: vetoshkina_d@mail.ru, тел. +7 996 51586560*

При изменении освещенности растений оптимизация фотосинтетической активности происходит в том числе на стадии поглощения энергии за счет изменения структурно-функциональных характеристик светособирающих антенных комплексов (ССК2) Перераспределение поглощенной солнечной энергии между фотосистемами (ФС), известное как переходы состояний (state transitions), является одним из механизмов краткосрочной адаптации. Первым этапом в этом процессе является активация киназы STN7, которая фосфорилирует белки Lhcb1 и Lhcb2 (у высших растений) ССК2, что приводит к отстыковке ССК2 от ФС II и их миграции и присоединению к ФС I.

Целью данной работы было сравнить влияние продолжительности освещения и интенсивности света на протекание процесса state transitions в листьях арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*) и ячменя (*Hordeum vulgare*).

Используя измерения флуоресценции хлорофилла *a* при температуре жидкого азота, а также измерения при комнатной температуре было показано более медленное развитие перехода из состояния 1 в состояние 2 в листьях растений арабидопсиса по сравнению с ячменем. Интересно, что мы не обнаружили различий в скорости накопления фосфорилированных белков Lhcb1 и Lhcb2 в исследуемых растениях, то есть не обнаружили отличий в первом этапе state transitions. Поэтому далее были оценены параметры, которые могут влиять на второй этап этого перехода, т.е. собственно скорость миграции комплексов ССК2 в тилакоидной мембране. Вязкость тилакоидных мембран, измеренная с помощью ЭПР, у арабидопсиса оказывалась выше, чем у ячменя. Используя конфокальную микроскопию, были обнаружены отличия в размере хлоропластов в листьях исследуемых видов: хлоропласты арабидопсиса оказывались достоверно больше по сравнению с хлоропластами ячменя.

Таким образом, отличия в развитии перехода из состояния 1 в состояние 2 у арабидопсиса и ячменя, по-видимому, связаны с более медленной скоростью миграции ССК2 у арабидопсиса в тилакоидах, чем у ячменя, а не различиями в скорости фосфорилирования Lhcb1 и Lhcb2.

Кроме того, при исследовании влияния интенсивности света на протекание state transitions в листьях арабидопсиса и ячменя также были обнаружены отличия между этими видами: в листьях арабидопсиса переход из состояния 1 в состояние 2 ингибировался при интенсивности света выше 300 мкмоль квантов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$, в то время как у растений ячменя этот процесс все еще наблюдался при интенсивности до 1000 мкмоль квантов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$.

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-74-10088, <https://rscf.ru/project/22-74-10088/>.

**CIS-ИЗОМЕРЫ КАРОТИНОИДОВ В ТИЛАКОИДНЫХ МЕМБРАНАХ
ЦИАНОБАКТЕРИИ *ARTHROSPIRA PLATENSIS***

cis-Carotenoids in thylakoid membranes of cyanobacteria *Arthrospira platensis*

Вечтомова Ю.Л.^{1*}, Телегина Т.А.¹, Айбуш А.В.², Крицкий М.С.¹

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский
центр «Фундаментальные основы биотехнологии»

Российской академии наук, Москва, Россия;

²Федеральный исследовательский центр химической физики
им. Н.Н. Семенова Российской академии наук, Москва, Россия

*e-mail: vechtomova@inbi.ras.ru, тел. +7 495 9523431

Каротиноиды – наиболее многочисленная и широко распространенная группа природных пигментов. Между тем важно иметь в виду, что каротиноиды являются лабильными соединениями и легко подвергаются *cis-trans* изомеризации при действии света, под действием нагревания, в отсутствие или в присутствии катализаторов и фотосенсибилизаторов [1]. Конфигурация каротиноидов отвечает за их специфические фотофизические и фотохимические свойства, которые можно адаптировать за счёт изменений в их молекулярной структуре. Известно, что фотозащитные, структурирующие и др. функции каротиноид-белковых комплексов связаны с *cis*-конфигурацией каротиноидов, присутствующих в тилакоидных мембранах [2].

Cis-изомеры каротиноидов были получены в составе каротиноид-белковых комплексов из тилакоидов цианобактерии *Arthrospira planensis* (спирулина) с использованием ультрацентрифугирования в ступенчатом градиенте водного раствора сахарозы. Солюбилизированные с помощью детергента п-додецил-β-D-мальтозида тилакоиды при ультрацентрифугировании поделились на шесть фракций, содержащих хлорофилл-каротиноид-белковые и каротиноид-белковые комплексы.

Методами электронной спектроскопии и комбинационного рассеяния показано наличие в тилакоидных мембранах спирулины каротиноидов в *cis*-конфигурации в составе каротиноид-белковых комплексов. Показано совпадение спектров комбинационного рассеяния для каротиноидов в составе комплексов с теоретическими спектрами *cis*-каротиноидов, рассчитанными с помощью нестационарной теории функционала плотности (TD-DFT) и функционала B3LYP def2-TZVP. Методом КД-спектроскопии показано, что каротиноид-белковые

комплексы в водных растворах склонны к агрегации, вероятно, за счет агрегации каротиноидной составляющей комплекса.

Работа поддержана грантом РФФ № 21-74-20155.

Литература.

1. Liaaen-Jensen, S., Lutnøes, B.F. E/Z Isomers and Isomerization. In: Britton, G., Liaaen-Jensen, S., Pfander, H. (eds) Carotenoids. Carotenoids, vol 4. Birkhäuser Basel. 2008.
2. Telegina, T.A., Vechtomova, Y.L., Aybush, A.V., Buglak, A. A., Kritsky, M. S. Isomerization of carotenoids in photosynthesis and metabolic adaptation // Biophys Rev. 2023. Vol. 15. P. 887–906.

**МЕХАНИЗМЫ КИСЛОРОД-ЗАВИСИМОГО ОКИСЛЕНИЯ ПУЛА
ПЛАСТОКИНОНА В ТЕМНОТЕ ПОСЛЕ ОСВЕЩЕНИЯ В ТИЛАКОИДАХ
ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ**

**Oxygen-dependent mechanisms of plastoquinone pool oxidation in the dark after
illumination in thylakoids of higher plants**

*Вильянен Д.В. *, Найдов И.А., Борисова-Мубаракишина М.М.,
Иванов Б.Н., Козулева М.А.*

Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии
наук – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Россия

**e-mail: vilyadar@gmail.com, тел. +7 914 9532170*

Окислительно-восстановительное состояние пула пластохинона в тилакоидах играет важную роль в регуляции метаболизма хлоропластов. На свету пул пластохинона находится преимущественно в восстановленном состоянии и с выключением света постепенно окисляется. Считается, что для окисления пула пластохинона в темноте необходим кислород, хотя точные механизмы этого процесса до сих пор неизвестны и являются предметом дискуссий. Это может быть спонтанная реакция, ферментативная реакция, катализируемая пластидной терминальной оксидазой (plastid terminal oxidase, РТОХ), или реакция с активными формами кислорода, которые образуются и накапливаются при освещении.

В этой работе мы анализировали кинетику окисления пула пластохинона в изолированных тилакоидах гороха как изменение площади над кривой флуоресценции (A_F) с помощью измерения ОЛР-кинетик через разные промежутки времени (от 0,1 секунды до 10 минут) в темноте после освещения тилакоидов. Результаты продемонстрировали двухфазное увеличение A_F с течением времени в темноте после освещения. «Быстрая» фаза связана с потоком электронов из пула пластохинона к последующим акцепторам, окисленным на свету. При этом с помощью экспериментов в анаэробных условиях на изолированных тилакоидах и хлоропластах было показано, что «медленная» фаза кинетики окисления пула пластохинона, по-видимому, опосредована кислород-зависимыми реакциями.

Добавление октилгаллата, ингибитора РТОХ, к суспензии изолированных тилакоидов привело к увеличению полувремени «медленной» фазы (τ_2) после освещения вспышкой, но не после стационарного освещения светом высокой интенсивности. Этот результат

подразумевает, что РТОХ вносит вклад в окисление пула пластохинона в тилакоидах в темноте, однако стационарное освещение приводит к появлению дополнительного окислителя, на фоне которого активность РТОХ перестает играть определяющую роль. Таким окислителем может быть пероксид водорода, накапливающийся в процессе работы электрон-транспортной цепи при высокой интенсивности света и под влиянием стрессовых факторов. В наших экспериментах добавка H_2O_2 в небольших концентрациях к суспензии тилакоидов, освещенных вспышкой, приводила к уменьшению τ_2 . При этом добавка к тилакоидам каталазы, фермента, разлагающего H_2O_2 , приводила к увеличению τ_2 в случае освещения тилакоидов стационарным светом высокой интенсивности, но не вспышкой. Эти результаты показывают, что H_2O_2 , который накапливается в хлоропластах во время освещения, участвует в окислении пула пластохинона в темноте, причем данный путь окисления пула пластохинона в темноте может быть доминантным в стрессовых условиях.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 23-14-00396); <https://rscf.ru/project/23-14-00396>/Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 23-14-00396); <https://rscf.ru/project/23-14-00396/>

**РОЛЬ КИНАЗЫ SnRK1 В РЕГУЛЯЦИИ ПРОПУСКНОЙ СПОСОБНОСТИ
ПЛАЗМОДЕСМ *ARABIDOPSIS THALIANA* В СВЕТОВЫХ
И ТЕМНОВЫХ УСЛОВИЯХ**

**The role of SnRK1 kinase in the regulation of plasmodesmata permeability in light
and dark conditions**

Виноградова О.А.^{1,2*}, Дмитриева В.А.²,
Тютерева Е.В.², Войцеховская О.В.²

¹Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук,
Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: bm61.vinogradova@gmail.com, тел. +7 999 5349025

Плазмодесмы – межклеточные контакты растений, обеспечивающие симпластный транспорт различных соединений, в том числе они играют ключевую роль в загрузке флоэмы продуктами фотосинтеза. Отток ассимилятов играет важную роль в снятии механизма ингибирования фотосинтеза сахарами, накапливающимися в листе при закрытии плазмодесм. Пропускная способность плазмодесм – предмет сложной, многоуровневой организации.

Киназа SnRK1 – важный активатор катаболизма, она активируется в темноте, а также при различных видах стресса, например, при углеводном голодании или патогенной атаке. Известно, что антагонист SnRK1 – киназа TOR – снижает пропускную способность плазмодесм в зависимости от уровня АТФ в клетке [1]. Целью нашей работы стало изучить, влияет ли SnRK1 на симпластную проводимость.

С помощью метода DAnS, основанного на способности флуоресцентного красителя специфично проникать через плазмодесмы [2], нами была изучена роль SnRK1 в регуляции пропускной способности плазмодесм линий *Arabidopsis thaliana* с разным уровнем экспрессии гена, кодирующего каталитическую субъединицу SnRK1 KIN10. Измерения проводились после начала цветения в конце светового дня и середине темнового периода.

На свету у сверхэкспрессоров SnRK1 (KIN10OX1 и KIN10OX2) симпластная проводимость была снижена по сравнению с диким типом; у линий со сниженной активностью киназы (KIN10RNAi) проводимость плазмодесм оказалась такой же, как у дикого типа. В темноте ни у каких

линий различий не наблюдалось. Также интересно отметить, что у дикого типа и KIN10RNAi пропускная способность на свету была выше, чем в темноте, в то время как в обеих линиях сверхэкспрессорах таких различий не наблюдалось.

На основании полученных результатов мы предполагаем, что SnRK1 работает как активатор защитных программ, закрывая плазмодесмы; возможно, этот механизм опосредован через воздействие на реморины [3].

Литература.

1. Brunkard JO, Xua M, Scarpina MR, Chatterjee S, Shemyakina EA, Goodman H, Zambryskia P (2020) TOR dynamically regulates plant cell–cell transport. PNAS vol. 117 no. 9 5049–5058.
2. Cui W, Wang X, Lee, J.-Y. (2015) Chapter 10. technique for assaying plasmodesmal permeability. Nature Plants vol. 1217 149–156.
3. Son S, Oh CJ, An SC (2014). Arabidopsis thaliana remorins interact with SnRK1 and play a role in susceptibility to beet curly top virus and beet severe curly top virus. Plant Pathol. J. vol. 30 no. 269–278.

**АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА (АФК) - МАРКЕРЫ МЕХАНИЗМА
ДЕЙСТВИЯ ФИТОТОКСИНОВ И ГЕРБИЦИДОВ**

**What can reactive oxygen species (ROS) tell us about the action mechanism of
herbicides and other phytotoxins?**

*Войцеховская О.В. *, Дмитриева В.А., Тютерева Е.В.*

Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской Академии Наук,
Санкт-Петербург, Россия

**ovoitse@binran.ru, тел. +7 921 3351610*

Активные формы кислорода (АФК) образуются в растительных клетках непрерывно. Уровни продукции АФК увеличиваются при абиотическом стрессе, во время атаки патогенов в ответ на элиситоры, а также при применении токсичных соединений, таких как синтетические гербициды или природные фитотоксины. Когда выработка АФК превышает антиоксидантную способность клеток, развивается окислительный стресс, который вызывает повреждение компонентов клетки и может даже привести к индукции запрограммированной гибели клеток (ПКС). Коммерческая ценность многих синтетических гербицидов основана на гибели сорняков в результате окислительного стресса, а для ряда из них охарактеризованы место и механизм продукции АФК.

В зеленых автотрофных клетках массовая продукция АФК имеет место (i) в митохондриях в реакции семихинон-радикала с кислородом с образованием $O_2^{\cdot-}$; (ii) в пероксисомах СЗ-растений в фотодыхании, где образуется H_2O_2 ; (iii) в хлоропластах, где 1O_2 генерируется ФС2, а $O_2^{\cdot-}$ и H_2O_2 – ФС1; (iv) на плазматической мембране, где пероксидазы и НАДФН-оксидазы (РВОН) продуцируют H_2O_2 и $O_2^{\cdot-}$. Однако, АФК могут образовываться и в других местах/реакциях, но в намного меньших количествах. Комитет по исследованию устойчивости к гербицидам (Herbicide Resistance Action Committee, HRAC) выделяет 26 групп гербицидов согласно их механизму действия. Из них восемь групп уничтожают сорняки именно посредством индукции продукции АФК, т.е. АФК образуются как непосредственный результат взаимодействия этих гербицидов с их молекулярными мишенями (ММ). Гербициды других восьми групп также могут индуцировать образование АФК, но в ходе вторичного эффекта повреждений, вызванных ингибированием ММ. Считается, что девять групп гербицидов не приводят к образованию АФК ни на каком этапе воздействия; тем не менее, для представителей четырех

из них продукция АФК отмечалась спустя несколько дней или даже часов после обработки.

Использование АФК-специфичных флуоресцентных зондов и АФК-специфичных маркерных генов может предоставить важную информацию о механизме действия как синтетических гербицидов, так и природных фитотоксинов. Анализ литературных данных показывает, что тщательная идентификация основных АФК, массово образующихся в первые часы после применения гербицида, с помощью специфичных для АФК маркерных генов и флуоресцентных зондов может способствовать установлению механизма действия токсинов. Кроме того, появляется все больше данных, указывающих на то, что, помимо окислительного повреждения, возникновение АФК-индуцированной ПКС может выступать важным процессом, лежащим в основе действия гербицидов и фитотоксинов. В естественных условиях АФК, индуцированные в растениях аллелохимическими веществами или природными фитотоксинами, могут инициировать ПКС; поэтому именно индукция специфической для растений ПКС может стать перспективным направлением разработки будущих коммерческих гербицидов со сниженной токсичностью для человека и животных [1].

Литература.

1. Dmitrieva et al. (2024) What can reactive oxygen species (ROS) tell us about the action mechanism of herbicides and other phytotoxins? *Free Rad Biol Med* 220:92–110.

**АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ АНАТОМИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ЛИСТА НА
ВЕГЕТАЦИОННЫЕ И ПИГМЕНТНЫЕ ИНДЕКСЫ ОТРАЖЕНИЯ У ГОРОХА**
**Analysis of the influence of leaf anatomical features on vegetation and pigment
reflection indices in peas**

*Гребнева К.В.**, *Бондарев О.О.*, *Юдина Л.М.*, *Сухова Е.М.*, *Сухов В.С.*

Национальный исследовательский Нижегородский государственный
университет имени Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

*e-mail: *grebneva.kseniya01@mail.ru*, тел. +7 917 9156174

Развитие методов дистанционного мониторинга имеет важное значение для своевременной и точной диагностики состояния растений. Индексы отражения, как один из инструментов мульти- и гиперспектрального имиджинга, могут быть применены для оценки зеленой биомассы, состояния фотосинтетического аппарата и других показателей. Однако эффективность их использования значительно варьирует, и вариабельность анатомических характеристик листьев может быть одной из причин этого. Таким образом, целью работы стал анализ влияния толщины палисадного и губчатого мезофилла, а также общей толщины мезофилла листа на основные индексы отражения.

Объектом исследования был горох посевной (*Pisum sativum*, сорт «Альбумен»), выращенный на универсальном грунте в вегетационной комнате (24°C, 16-часовой фотопериод, полив три раза в неделю) в условиях умеренного (52 мкмоль м⁻²с⁻¹) и слабого (14,5 мкмоль м⁻²с⁻¹) освещения. У 9-ти и 16-ти дневных проростков с верхней стороны второго зрелого листа были измерены основные индексы отражения (PolyPen RP 410, Photon System Instruments, Чехия). После по стандартной методике были изготовлены анатомические срезы измеряемых листьев, которые фиксировались уксусной кислотой (100 мл 50%-го этилового спирта, 7 мл 40%-го формалина, 5 мл ледяной уксусной кислоты) и исследовались при 40-кратном увеличении (объектив Plan Achromat 40X) на микроскопе МТ 4200 (Meiji Techno, Япония). Анатомические параметры измерялись с помощью откалиброванного окулярного микрометра с дискретностью шкалы в 2,5 мкм.

С использованием коэффициента корреляции Пирсона были оценены связи между значениями индексов отражения и анатомическими характеристиками листьев. Было показано, что 17 из 25-ти исследованных индексов имеют сильную ($|r| > 0,7$) связь с толщиной палисадного мезофилла и 14 – с общей толщиной мезофилла. В частности, сильные

связи были выявлены для вегетационных индексов NDVI и OSAVI, отражающих фотосинтезирующую биомассу и общее содержание фотосинтетических пигментов у растений, и пигментные индексы NPCI и ARI1, связанные с содержанием хлорофиллов и антоцианов, соответственно. Корреляции индексов с толщиной губчатого мезофилла были значительно слабее ($|r| \leq 0,7$ для всех исследованных показателей). Последнее может объясняться измерениями параметров отражения с верхней стороны листа (большая часть света отражается и рассеивается в палисадном мезофилле), что приблизительно соответствует измерениям в условиях открытого грунта. Не исключено также влияние других отличий между этими слоями (содержание хлорофилла, форма и расположение клеток).

Таким образом, показано, что ряд индексов отражения (в частности, NDVI, OSAVI, ZMI, NPCI, Ctr2, GM2, ARI1) имеет сильную связь с толщиной мезофилла листа, особенно его палисадного слоя, что может влиять на эффективность использования этих индексов в дистанционном мониторинге состояния растений, в частности, для оценки содержания у них фотосинтетических пигментов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 23-14-00127.

СРАВНЕНИЕ PAM-, HS- и TIR-ИМИДЖИНГА В ДЕТЕКЦИИ ВИРУСНОЙ И БАКТЕРИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ В РАСТЕНИЯХ *Nicotiana benthamiana*

Comparison of PAM-, HS- and TIR-imaging in the detection of viral and bacterial infection on *Nicotiana benthamiana* plants

Гришина А.И.*, Жаворонкова А.С., Агеева М.Н.,
Брилкина А.А., Воденев В.А.

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

*e-mail: 79159532707@yandex.ru, тел +7 915 9532707

Патогены – серьезная проблема при получении сельскохозяйственной продукции, они отняли 4% от количества мирового урожая в период с 2015 по 2022 год. Ежегодные потери урожая, вызванные биотическими факторами, оцениваются в примерно 220 миллиардов долларов США (FAO, 2023).

Целью данной работы сравнение оптических методов в детекции фитопатогенов различной природы в растениях *Nicotiana benthamiana*.

Исследования проводились на четырёхнедельных растениях *Nicotiana benthamiana*, в которых наблюдали распространение вируса PVX и бактерии *Pseudomonas syringae*. Для отслеживания распространения PVX по растению, в капсид вируса был вшит белок GFP. В качестве методов обнаружения инфекции применяли PAM-флуориметрию, гиперспектральный имиджинг и RGB фотографии. Данные получали каждый день в одно и то же время в течение 10 дней с помощью IMAGING-PAM M-Series MINI, PlantExplorerPro+, гиперспектральной камеры Specim IQ и тепловизионной камеры Testo 885. В неинкулированном (10 листе) листе табака, где с течением времени наблюдали развитие вирусной и бактериальной инфекции регистрировали вызванные инфицированием изменения параметров флуоресценции хлорофилла (максимальный квантовый выход фотосистемы II (F_v/F_m), квантовый выход фотосистемы II (YII) и нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ)), спектры отражения в здоровых и инфицированных частях листа и нормализованные отражательные индексы (NRI), а так же температуру в здоровых и инфицированных листьях.

Можно выделить следующие основные различия в эффектах патогенов разных типов на показатели флуоресценции хлорофилла. Вирус PVX оказывает слабый эффект на стационарные показатели флуоресценции хлорофилла в течение длительного времени после

инфицирования. Бактерия *P. syringae* оказывает выраженный эффект на стационарные показатели, происходит понижение F_v/F_m и $\Phi PSII$, а также повышение NPQ. Для переходного $\Phi PSII$ имеют место выраженные отличия от контроля в случае вирусной инфекции. Инфицирование вирусом вызывает усиление отражательной способности в диапазонах длин волн 510-650 нм и 690-720 нм. Отмеченные различия нарастают с увеличением времени после появления вируса в исследуемом листе. Инфицирование бактерией вызывает усиление отражательной способности в диапазонах длин волн 400-500 нм, 560- 660 нм, 680-720 нм. В случае бактериальной инфекции необходимо отметить ослабление сигнала в ИК-диапазоне спектра, усиливающиеся с увеличением времени после инфицирования. Максимальные различия между патогенами двух типов имеют место для $NRI_{530-650}$. Развитие инфекций вызвало повышение температуры листа и, соответственно, повышение уровня транспирации более, чем на 0,3 для бактериальной инфекции и на 0,25 для вирусной. Были сделаны выводы о чувствительности и специфичности оптических методов.

Работа выполнена в ходе выполнения проекта НЦМУ «Центр фотоники» при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, договор № 075-15-2022-293.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ НА АКТИВНОСТЬ
КОРТИКУЛЯРНОГО ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ЯБЛОНИ
ДОМАШНЕЙ (*MALUS DOMESTICA*)**

**Study of temperature influence on the corticular photosynthetic apparatus of
apple tree (*Malus domestica*)**

*Грязнова У.В. *, Тихонов К.Г., Шитов А.В., Савченко Т.В.*

Институт фундаментальных проблем биологии, Федеральный
исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических
исследований Российской академии наук»,
Пушино, Россия

**e-mail: ulyana.gr@yandex.ru, тел. +7 915 6863515*

Недавно опубликованные данные акцентируют внимание на роли кортикулярного фотосинтеза в формировании механизмов устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды, в частности, к неблагоприятным температурным условиям. В этой связи культурные многолетние растения представляют особый интерес для исследований вклада кортикулярного фотосинтеза в стрессоустойчивость и общую продуктивность, что может помочь в разработке новых подходов к селекции сельскохозяйственных культур.

Проведение еженедельного мониторинга активности кортикулярного фотосинтетического аппарата яблони путем измерения значений эффективного квантового выхода фотосистемы II ($Y(II)$) в течение 85 недель показало, что температура окружающей среды в значительной степени влияет на нее. Было замечено, что эта активность сохраняется даже зимой, хотя фиксируемые значения эффективного квантового выхода были довольно низки. Инкубация при комнатной температуре ветвей, собранных в зимний сезон, привела к быстрому (в течение получаса) возрастанию активности кортикулярного фотосинтетического аппарата, что говорит о сохранении его функционального потенциала в зимующих ветвях.

Сравнение устойчивости к повышенным температурам кортикулярного фотосинтетического аппарата ветвей яблони домашней, собранных в разные сезоны, показало, что в процессе подготовки к зиме кортикулярный фотосинтетический аппарат теряет способность выдерживать высокие температуры.

В фотосинтетическом аппарате листьев и ветвей яблони по-разному происходит распределение поглощенной энергии света между процессами

фотохимического тушения, нефотохимического тушения и нерегулируемой диссипации. В кортикальном фотосинтетическом аппарате большая доля поглощенной энергии расходуется на нефотохимическое тушение. Также у него было отмечено резкое падение значений эффективного квантового выхода при повышении интенсивности действующего света.

Литература.

1. Aschan G., Pfanz H. (2003) Non-foliar photosynthesis – a strategy of additional carbon acquisition. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 198 (2):81-97.
2. Sundyrev MA, Yanykin DV, Khristin MS, Gryaznova UV, Lutskiy EO, Semenova GA, Naydov IA, Savchenko TV (2023) Possible Contribution of Corticular Photosynthesis to Grapevine Winter Hardiness. *Horticulturae* 9 (11):1181.
3. Yanykin D., Sundyrev M., Khorobrykh A., Semenova G., Savchenko T. (2020) Functional characterization of the corticular photosynthetic apparatus in grapevine. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*, vol. 1861, issue 11, 148260.

ИССЛЕДОВАНИЕ СВЕТО-ЗАВИСИМЫХ РЕАКЦИЙ ОММОХРОМОВ ГЛАЗА ЧЛЕНИСТОНОГИХ

Study of light-dependent reactions of arthropod eye ommochromes

Донцов А.Е., Яковлева М.А. , Островский М.А.*

ФГБУН Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля,
Москва, Россия

**e-mail: lina.invers@gmail.com, тел. +7 929 5707301*

Оммохромы – характерные экранирующие и антиоксидантные пигменты беспозвоночных животных, защищающие зрительные клетки от повреждающего действия света [1]. Известно, что оммохромы чувствительны к облучению. Они легко подвергаются метилированию, метоксилированию и декарбоксилированию под действием света [2]. В настоящей работе исследовали действие видимого света на оммохромы сложного глаза членистоногих. Оммохромы были выделены, очищены и получены в препаративных количествах из ракообразных (Crustacea; семейства Pandalus) и насекомых (Insecta; семейства Stratiomyidae, Sphingidae, и Tenebrionidae). Физико-химические свойства выделенных оммохромов были изучены методами абсорбционной и флуоресцентной спектроскопии, электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Показано, что при облучении видимым светом, особенно в синей области спектра, наблюдается батохромный сдвиг и восстановление оммохромов. К аналогичному эффекту приводит химическое восстановление оммохромов аскорбатом или боргидридом натрия. Облучение оммохромов ультрафиолетом и видимым светом приводит к значительному нарастанию сигнала ЭПР. Химические окислители (пероксид водорода), напротив, вызывают гипсохромный сдвиг максимума поглощения, повышение интенсивности флуоресценции и падение интенсивности сигнала ЭПР оммохромов. Процесс восстановления светом и окисления оммохромов пероксидом водорода был также подтвержден хроматографически. Оммохромы при облучении ультрафиолетом и видимым светом в присутствии детергента (цетилтриметиламмоний бромид) восстанавливают нитросинийтетразолий (НСТ) и цитохром с. Этот процесс ингибируется супероксиддисмутазой. Результаты свидетельствуют, что при освещении оммохромы способны восстанавливать кислород до его анион-радикальной формы. Этот процесс, по-видимому, присущ только восстановленной форме

оммохромов, поскольку окисленные оммохромы восстанавливают НСТ и цитохром *c* при освещении гораздо менее эффективно.

Биологическое значение свето-индуцированного восстановления оммохромов в тканях глаза членистоногих может быть связано с обновлением метаболически окисленных оммохромов путем трансформации их в восстановленную форму, проявляющую, в отличие от окисленных форм, высокую антиоксидантную и поглощающую способности.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект №. 122041400102-9).

Литература.

1. Dontsov A.E., Ostrovsky M.A. Ommochromes of the Compound Eye of Arthropods from the Insects and Crustaceans Classes: Physicochemical Properties and Antioxidant Activity. In: Arthropods-New Advances and Perspectives, IntechOpen, 2022. doi: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.107058>
2. Figon F., Casas J. Ommochromes in invertebrates: biochemistry and cell biology. Biological Reviews. 2019; 94: 156-183. doi: 10.1111/brv.12441

**ВЛИЯНИЕ ШИРИНЫ СПЕКТРАЛЬНОЙ ПОЛОСЫ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НОРМАЛИЗОВАННЫХ ИНДЕКСОВ ОТРАЖЕНИЯ ПРИ
ДЕЙСТВИИ СТРЕССОРОВ НА РАСТЕНИЯ**

**Influence wide of spectral band on efficiency of using normalized reflectance
indices at action of stressors on plants**

Золин Ю.А., Сухов В.С., Сухова Е.М.*

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Россия

**e-mail: uchebnaya.zolin@gmail.com, тел. +7 987 7527063*

Дистанционный мониторинг состояния растений играет важную роль для своевременного выявления действия стрессоров и принятия защитных мер. Использование систем оптического мониторинга, в частности систем мульти- и гиперспектрального имиджинга, показывает высокую эффективность для решения этой задачи. В то же время, увеличение доступности таких систем для пользователей требует поиска подходов к их упрощению и снижению себестоимости. Одним из таких путей является увеличение ширины спектральной полосы при измерениях, что позволяет использовать более «грубые» и дешевые системы имиджинга отраженного света. Текущая работа посвящена исследованию эффективности мониторинга состояния растений (в частности, показателей фотосинтетического аппарата) под действием стрессоров в условиях увеличения ширины анализируемых спектральных полос отраженного света.

В исследовании использовали 2-4-недельные проростки гороха и пшеницы, выращенных в контролируемых условиях вегетационной комнаты. Растения подвергали почвенной засухе и засолению. Раз в два дня растения снимали на гиперспектральную камеру Specim IQ. В качестве источника света использовали галогеновые лампы. Обработка проводилась с использованием библиотек `spectral`, `numpy`, `scipy` и `matplotlib` на языке Python. Фон исключали при помощи узкополосного индекса NDVI. Были построены тепловые карты достоверностей различий между индексами отражения (RI) в контроле и опыте. Фотосинтетические показатели измеряли с использованием PAR-FluorPen FP 110/D. Содержание хлорофилла оценивали с использованием оптического хлорофиллометра CL-01.

Показано, что увеличение ширины спектральной полосы при расчете RI приводило к запаздыванию появления достоверных изменений.

При этом если количество соседних достоверно меняющихся RI на тепловой карте было небольшим или рядом имела большая область с противоположенными изменениями RI, то при увеличении ширины полосы изменения становились недостоверными. Более поздние изменения широкополосных RI при действии стрессоров, могут быть связаны с необходимостью изменений в обширной спектральной области, которые сопряжены с сильными стрессовыми изменениями. По этой причине широкополосные RI менее эффективны для раннего выявления действия стрессоров, чем узкополосные индексы. Тем не менее, широкополосные индексы также могут быть использованы для детекции действия на растения стрессора. При этом, наиболее эффективным является использование красной и зеленой спектральных полос (NRGI); применение зеленой и синей (NRBI) или красной и синей (NRBI) полос было менее эффективным. NRGI показал сильную связь с максимальным квантовым выходом фотосистемы II и содержанием хлорофилла у гороха и пшеницы. У пшеницы также наблюдалась сильная связь этих показателей с NGBI.

Полученные результаты показывают, что широкополосные индексы могут быть использованы для детекции стрессовых изменений у растений, что создает основу для разработки упрощенных систем их дистанционного мониторинга.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект 23-76-10048).

**ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ ЭЛЕКТРОН-
ТРАНСПОРТНОЙ ЦЕПИ *ARABIDOPSIS THALIANA* ПРИ ПОНИЖЕННОЙ И
ПОВЫШЕННОЙ КОНЦЕНТРАЦИЯХ CO₂ В ВОЗДУХЕ**

**Functioning of *Arabidopsis thaliana* photosynthetic electron transport chain under
reduced (150 ppm) and elevated (1200 ppm) concentrations of CO₂ in air**

Иванов Б.Н., Козулева М.А., Руденко Н.Н., Игнатова Л.К.,
Надеева Е.М., Найдов И.А., Ветошкина Д.В.,
Вильянен Д.В., Борисова-Мубаракишина М.М.*

Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр
биологических исследований Российской академии наук»,
Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

**e-mail: ivboni@rambler.ru*

Растения *Arabidopsis thaliana* адаптировали к пониженной (150 ppm), или к повышенной (1200 ppm) по сравнению с атмосферной (450 ppm) концентрациям CO₂ в воздухе в течение двух недель. В растениях, адаптированных к обеим измененным концентрациям CO₂, при измерении при постоянном освещении и атмосферной концентрации CO₂ квантовые выходы фотосистем были ниже, а нефотохимическая диссипация энергии и на акцепторной, и на донорной сторонах Фотосистемы 1 (ФС1) была выше, чем в контрольных растениях, растущих при атмосферной концентрации CO₂. Нерегулируемая диссипация энергии в Фотосистеме 2 (ФС2) была также выше в растениях, адаптированных к измененным концентрациям CO₂ в воздухе. Указанные характеристики функционирования фотосинтетической электрон-транспортной цепи (ФЭТЦ) в экспериментальных растениях значительно отличались от таковых в контрольных растениях через 1 мин после начала освещения, но через 9 мин освещения различия становились меньше. Адаптация растений к измененным CO₂ концентрациям в воздухе практически не влияла на регулируемую диссипацию энергии в ФС2. Относительные величины циклического электронного транспорта вокруг ФС1 мало различались в экспериментальных и контрольных растениях в начале освещения, но были существенно ниже через 9 мин в растениях, адаптированных к обеим измененным концентрациям CO₂. Величины *pmf* были выше в экспериментальных растениях, причем значительно в адаптированных к низкой концентрации CO₂. Измерения ОЛР-кинетики флуоресценции хлорофилла *a* листьев показали, что в растениях, адаптированных к пониженной концентрации CO₂ в воздухе, по

сравнению с контрольными растениями менее эффективно передается энергия от пигментной антенны реакционному центру ФС2, заторможен перенос электронов через цитохромный комплекс и затруднен перенос электронов от ФЭТЦ системе углеродного метаболизма. Предположено, что сходство характеристик ФЭТЦ в растениях, адаптированных к пониженной и к повышенной концентрациям CO_2 , является в обоих случаях следствием уменьшения электронного транспорта в ФЭТЦ в результате уменьшения скорости углеродного метаболизма, – при низкой концентрации CO_2 из-за недостатка акцептора, а при высокой концентрации CO_2 из-за уменьшения активности Рубиско.

**НОВЫЕ АСПЕКТЫ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ СКОРОСТИ
ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА В ХЛОРОПЛАСТАХ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ**

**New aspects of photosynthetic control of electron transport
in higher plants chloroplasts**

Козулева М.А.^{1}, Вильянен Д.В., Найдов И.А., Маркин Р.В.,
Руденко Н.Н., Иванов Б.Н.*

¹Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр
биологических исследований Российской академии наук»,
Пушино, Россия

**e-mail: kozuleva@gmail.com, тел. +7 965 2406561*

Работа фотосинтетического аппарата высших растений оптимизируется в постоянно меняющихся условиях окружающей среды. При дисбалансе между использованием восстановительных эквивалентов и улавливанием световой энергии в тилакоидном люмене накапливаются H^+ , в результате чего скорость фотосинтетического электронного транспорта замедляется на этапе окисления пластогидрохинона (PQH_2) в хинол-окисляющем (Qo -) сайте цитохромного b_6f комплекса – явление, называемое фотосинтетическим контролем. Замедление окисления PQH_2 при уменьшении рН люмена связано с тем, что окисление молекулы PQH_2 в Qo -сайте сопровождается её депротонированием с последующей диффузией H^+ в люмен по двум каналам: один H^+ диффундирует по каналу внутри цитохрома f , другой – по каналу, идущему напрямую от Qo -сайта и начинающемуся от остатка Glu78 субъединицы IV.

В нашей работе нам удалось разработать экспериментальный подход для исследования влияния рН люмена на работу этих каналов. Мы обнаружили, что рН люмена противоположным образом влияет на сродство Qo -сайта к 2,4-динитрофениловому эфиру 2-йодо-4-нитротимолу (DNP-INT) и 2,5-дибромо-3-метил-6-изопропилбензохинону (DBMIB) – конкурентным ингибиторам окисления PQH_2 , причем это влияние реализуется через разные каналы. С помощью разработанного подхода мы установили ряд аспектов функционирования цитохромного b_6f комплекса в тилакоидах высших растений.

В частности, с помощью разработанного подхода получены результаты, которые позволяют по-новому взглянуть на причины нарушения формирования протонного градиента в мутантах арабидопсиса без PGR5/PGRL1 комплекса – участника антимицин А-чувствительного циклического транспорта электронов вокруг фотосистемы 1. До сих пор не

известно, как именно функционирует PGR5/PGRL1 комплекс. Мы показали, что в тилакоидах арабидопсиса из мутантов без этого комплекса (линии *pgl5-1*, *pgl1lab*) увеличено по сравнению с тилакоидами дикого типа сродство к DNP-INT, тогда как сродство к DBMIB не отличается, что свидетельствует о нарушении в мутантах функционирования канала отвода H^+ из Qo-сайта, начинающегося с Glu78, но не канала внутри цитохрома *f*.

Также с помощью этого подхода удалось прояснить функции тилакоидных карбоангидраз (КА): в частности, расположенной с люменальной стороны альфа-КА4 и расположенной со стромальной стороны альфа-КА5. Мы обнаружили, что добавка HCO_3^- к суспензии изолированных тилакоидов арабидопсиса дикого типа приводит к увеличению сродства Qo-сайта к DNP-INT, причем в мутанте, в котором отсутствует альфа-КА4, этот эффект существенно сильнее, тогда как в мутанте без альфа-КА5 этого эффекта не наблюдали. Предположено, что тилакоидные КА обеспечивают поставку CO_2/HCO_3^- в люмен и их взаимоконверсию там, что влияет на величину люменального pH.

Таким образом, разработанный подход позволяет *in vitro* исследовать регуляцию функционирования цитохромного *b₆f* комплекса и механизмы фотосинтетического контроля.

**ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ВОЗБУЖДЕНИЯ НА ПАРАМЕТРЫ
ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА КЛЕТОК *CHARA* В ПРИСУТСТВИИ
МЕТИЛВИОЛОГЕНА И НИГЕРИЦИНА**

**The effect of electric excitation on chlorophyll fluorescence in the presence of
methyl viologen and nigericin in *Chara* cells**

*Крупенина Н.А. *, Булычев А.А.*

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

*e-mail: kamzolkina-n@yandex.ru, тел. +7 916 3538518

Ранее авторами было показано, что в покое плазматическая мембрана клеток *Chara* непроницаема для двухвалентных катионов метилвиологена (1,1'-диметил-4,4'-дипиридинхлорид, паракват). Однако генерация одиночного потенциала действия (ПД) в присутствии метилвиологена (МВ) открывает доступ этому гербициду к тилакоидам. Об этом свидетельствует резкое необратимое снижение флуоресценции хлорофилла Fm' и возрастание нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ) после возбуждения клетки в присутствии МВ [1]. В указанной работе нами было высказано предположение, что наблюдаемое в присутствии МВ нефотохимическое тушение Fm' имеет энергозависимую природу. Так как поток электронов на O₂ в присутствии МВ не связан с затратами АТФ, он вызывает возрастание ΔpH на мембранах тилакоидов, что проявляется в усилении NPQ и понижении эффективности переноса электронов в ФС2 [2].

Чтобы убедиться в том, что наблюдаемое тушение Fm' является энергозависимым, в данной работе было исследовано совместное влияние метилвиологена и ионофора нигерицина на изменения параметров флуоресценции при электрическом возбуждении клетки.

Клетку *Chara* помещали в камеру с небольшим выделенным отсеком, заполненным искусственной прудовой водой (ИПВ) с 0.3 мМ МВ, и регистрировали вызванную электрическим импульсом ответную реакцию этого участка клетки, которая заключалась в сильном необратимом снижении Fm'. Затем меняли положение клетки так, чтобы в выделенном отсеке оказался «свежий» участок клетки; в раствор помимо метилвиологена добавляли 3 мкМ нигерицина. И также записывали ПД-индуцированный ответ клетки.

Несмотря на то, что новый участок клетки находился на значительном расстоянии (около 10 мм) от старого, уровень

флуоресценции F_m' до генерации ПД уже был понижен. Это можно объяснить распространением МВ с потоком цитоплазмы после возбуждения первого участка клетки. После инкубации нового участка клетки в ИПВ с добавлением МВ и нигерицина, наблюдали повышение уровня максимальной флуоресценции. Это можно объяснить действием K^+/H^+ -обменника нигерицина, который снимает градиент протонов на мембранах тилакоидов и ΔpH -зависимое тушение F_m' . Также в работе показано, что нигерин устраняет тушение флуоресценции, индуцируемое электрическим возбуждением клетки в среде с метилвиологеном.

Результаты работы подтверждают предположение о том, что сильное и необратимое NPQ, проявляющееся в присутствии МВ, представляет собой именно энергозависимое тушение, связанное с образованием градиента H^+ на мембранах тилакоидов, а не другие виды тушения флуоресценции.

Литература.

1. Krupenina N.A., Bulychev A.A., Schreiber U. (2011) Chlorophyll fluorescence images demonstrate variable pathways in the effect of plasma membrane excitation on electron flow in chloroplasts of *Chara* cells. *Protoplasma* 248: 513-522.
2. Salvucci M.E., Portis jr A.R., Heber U., Ogren W.L. (1987) Stimulation of thylakoid energization and ribulose-bisphosphate carboxylase/oxygenase activation in *Arabidopsis* leaves by methyl viologen. *FEBS Let.* 221: 215-220.

**СИСТЕМНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ
РАСТЕНИЙ АРАБИДОПСИСА ПРИ ДЕЙСТВИИ ЛОКАЛЬНОГО НАГРЕВА**

**Systemic changes in the photosynthetic activity of *Arabidopsis* plants
upon local heating**

Кузнецова Д.В., Ладейнова М.М., Воденев В.А.*

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Россия

*e-mail: kuznetsova.dar0@gmail.com, тел. +7 929 0545200

Способность растений к адекватному системному ответу на стрессовые факторы крайне важна для адаптации к изменениям окружающей среды. Система быстрой передачи различных сигналов между удаленными друг от друга органами обеспечивает скоординированные физиологические изменения в ответ на действие факторов среды. Действие повреждающего стимула вызывает как генерацию и распространение переменного потенциала (ВП) – электрического сигнала в виде переходной деполяризации, так и изменения гормонального статуса. Предполагается, что системные изменения фотосинтетической активности, индуцированные ВП, могут быть опосредованы изменением содержания фитогормонов. Таким образом, целью работы явился анализ возможного участия жасмонатов в системных изменениях активности фотосинтеза в растениях *Arabidopsis thaliana* L. при действии локального повреждающего стимула.

В ходе работы были использованы растения арабидопсиса линий Col-6 и Col-8 (WT), а также растения мутантных линий *lox2* и *jar1-11* с пониженным уровнем экспрессии генов пути биосинтеза жасмонатов. Генерацию ВП вызывали с помощью постепенного локального нагрева, регистрацию изменений электрической активности проводили с использованием многоканальной макроэлектродной установки. Изменения фотосинтетической активности регистрировали с помощью метода РАМ-флуориметрии. Оценку содержания фитогормонов проводили методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии с использованием Shimadzu LCMS-8040.

Показано, что действие локального нагрева вызывает генерацию и распространение ВП в системные листья, при этом максимальная амплитуда изменений наблюдается в повреждаемом листе. Зарегистрирована пространственная неоднородность распространения сигнала: для листьев с прямыми сосудистыми связями с повреждаемым

листом амплитуда ВП статистически значимо больше, чем для листьев с непрямыми сосудистыми связями. Локальный нагрев также вызывает снижение фотосинтетической активности как в повреждаемом листе, так и в нераздраженных листьях, при этом наибольшая амплитуда ответа фотосинтеза зарегистрирована в раздражаемом листе, а наименьшая в листьях с непрямыми сосудистыми связями. Листья с непрямыми сосудистыми связями у растений мутантной линии *lox2* имеют меньшую амплитуду фотосинтетического ответа по сравнению с WT. Для растений линии *jar1-11* зарегистрировано значимое уменьшение амплитуды изменений фотосинтетической активности по сравнению с WT для листьев с прямыми сосудистыми связями. Также показано, что в растениях линий *lox2* и *jar1-11* системное повышение концентрации жасмонатов, вызванное локальным нагревом, было подавлено.

Таким образом, проведенный анализ пространственно-временной динамики электрической активности, фотосинтетической активности, а также сдвигов содержания жасмонатов при действии локального стимула показал, что в системных изменениях фотосинтетической активности, индуцированных ВП, жасмонаты могут играть роль посредника.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 22-14-00388).

**МОДЕЛИРОВАНИЕ СПЕКТРОВ ПОГЛОЩЕНИЯ
ЦИС-ТРАНС-ИЗОМЕРОВ КАРОТИНОИДОВ**

Simulating the absorption spectra of *cis-trans* isomers of carotenoids

Курков В.А.^{1,2*}, Чесалин Д.Д.¹, Пицальников Р.Ю.¹

¹Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук,
Москва, Россия

²Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия

*e-mail: v.k27@yandex.ru, тел. +7 499 5038734

Каротиноиды – многочисленная группа органических пигментов, которая вовлечена в широкий спектр физико-химических процессов в биологических системах. Их роль варьируется от поглощения квантов света, фотозащиты и стабилизации фотосинтетических комплексов до химического тушения синглетного кислорода, а также функционирования в качестве антиоксидантов и предшественников зрительных пигментов у животных [1]. Такое большое разнообразие процессов, в которых участвуют каротиноиды, обусловлено свойствами их π -электронной системы, теоретическое исследование которой важно для объяснения особенностей их функционирования и оптических свойств. Относительно простая химическая структура каротиноидов может быть несколько обманчивой, так как система чередующихся одинарных С–С и двойных С=С углеродных связей оказывает комплексное воздействие на спектры электронных переходов.

Из-за особенностей строения каротиноидов существует множество форм *cis*-изомеров. В частности, строго линейная конформация полиеновой цепи соответствует *all-trans* изомеру, а наличие изгиба приводит к образованию 9-, 11-, 13- *cis* изомеров. Изомеризация может также затрагивать изменения химической структуры в концевых группах: характерный пример – молекулы лютеина и зеаксантина. Изменение геометрии молекулы каротиноидов в случае *cis*-изомеров влияет на свойства электронных состояний пигмента, что отражается в спектрах поглощения появлением дополнительной к интенсивному низкоэнергетическому *all-trans* переходу высокоэнергетической полосы. Интенсивность этой новой полосы поглощения зависит от положения *cis*-изгиба, и чем ближе к центру молекулы, тем она интенсивнее.

Для расчёта спектров поглощения $S_0 \rightarrow S_n$ электронных переходов нами была предложена модель, при которой изгиб полиеновой цепи *cis* изомера приводит к образованию двух дипольных моментов,

ориентированных вдоль соответствующих участков молекулы. Компонента, направленная вдоль более короткого плеча изомера и, очевидно, исчезающая в случае чистого *all-trans* перехода, может рассматриваться как момент *cis* перехода минорной составляющей в общем спектре. Перераспределение интенсивностей наблюдаемых полос в спектре поглощения вычисляется из общего гамильтониана для системы из двух уровней. Более того, при расчётах спектров учитывается энергия взаимодействия между электронными состояниями, соответствующими каждому сегменту молекулы изомера. Профиль спектра поглощения как для *cis*, так и для *all-trans* изомеров рассчитывается с помощью полуклассической квантовой теории, в рамках которой воздействие колебаний скелета молекулы на электронный переход моделируются набором гармонических осцилляторов с затуханием [2,3].

Литература.

1. Hashimoto H, Uragami C, Yukihiro N, Gardiner AT, Cogdell RJ (2018) Journal of the Royal Society Interface Vol. 15. 20180026.
2. Chesalin DD, Kulikov EA, Yaroshevich IA, Maksimov EG, Selishcheva AA, Pishchalnikov RY (2022) Swarm and Evolutionary Computation. Vol. 75. 101210.
3. Pishchalnikov RY, Yaroshevich IA, Zlenko DV, Tsoraev GV, Osipov EM, Lazarenko VA, Parshina EY, Chesalin DD, Sluchanko NN, Maksimov EG (2023) Photosynthesis Research. Vol. 156. pp. 3-17.

**РОЛЬ ФИТОГОРМОНОВ В СИСТЕМНОМ ОТВЕТЕ ФОТОСИНТЕЗА ПРИ
ДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ СТИМУЛОВ**

**The role of phytohormones in the systemic response of photosynthesis under the
action of various types of stimuli**

Ладейнова М.М., Обыденнова С.А., Мудрилов М.А.,
Кузнецова Д.В., Воденев В.А.*

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»,
Нижний Новгород, Россия

**e-mail: ladeynova.m@yandex.ru*

Системные ответы растений на неблагоприятные факторы окружающей среды играют важную роль в адаптации растений, однако практически неизвестно, насколько специфичны фотосинтетические ответы по отношению к стимулу, и какую роль играют стрессовые сигналы в индукции специфичных ответов. Предполагается, что гормональные сигналы могут участвовать в индукции системного фотосинтетического ответа при действии локальных стимулов. Среди фитогормонов наиболее вероятными кандидатами на роль индукторов ответа фотосинтеза являются абсцизовая кислота (АБК) и жасмонаты, но на данный момент недостаточно информации о динамике данных гормонов при действии стимулов различной природы. Целью настоящей работы является анализ роли фитогормонов в системном ответе фотосинтеза при действии различных локальных стимулов.

Исследования были выполнены на 15-19-дневных растениях пшеницы (*Triticum aestivum* L.). В качестве локальных раздражителей использовались механическое повреждение и постепенный нагрев кончика листа. Определение содержания фитогормонов проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Оценку изменений фотосинтетической активности проводили методом РАМ-флуориметрии.

Механическое повреждение и локальный нагрев вызывали снижение активности фотосинтеза, но при нагреве фотосинтетический ответ развивался в две фазы – быструю и длительную, в то время как при механическом повреждении формировалась только быстрая фаза. Амплитуда ответа, вызванного нагревом, была значительно больше, чем при механическом повреждении, и при нагреве амплитуда быстрой фазы

не уменьшалась с увеличением расстояния от зоны стимуляции. Динамика содержания жасмонатов в ответ на нагрев и механическое повреждение была сходной: быстрый рост концентрации через 5 мин, максимум через 10 – 20 мин, затем постепенное снижение до контрольного уровня. Однако при нагреве амплитуда изменений концентрации жасмонатов была в ~30 раз больше, чем при механическом повреждении. Содержание АБК постепенно увеличивалось в ответ на локальный нагрев, достигая максимума через 60 и 120 мин. В ответ на механическое повреждение содержание АБК также возрастало, но достигало максимума через 20 мин. Отсутствие второй длительной фазы ответа фотосинтеза при механическом повреждении согласуется с небольшим ростом концентрации жасмонатов и, вероятно, не связано с повышением содержания АБК, тогда как наличие выраженной второй фазы ответа фотосинтеза при нагреве обусловлено значительным системным увеличением содержания жасмонатов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-74-00169, <https://rscf.ru/project/24-74-00169/>.

ГЕНЕРАЦИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСТВА ХРОМАТОФОРАМИ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ СТАЦИОНАРНОМ ОСВЕЩЕНИИ

Мамедов М.Д.¹, Витухновская Л.А.^{1,2}, Засна А.А.¹,
Мамедова А.М.¹, Семенов А.Ю.^{1,2}

¹НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

²Федеральный исследовательский центр химической физики
им. Н.Н. Семёнова РАН, 119991 Москва, Россия

e-mail: mahirmamedov@yandex.ru

В работах по исследованию преобразования энергии света в био-гибридных структурах на основе фотосинтетических систем важно не только получение значительной амплитуды тока или электричества при стационарном освещении, но и выявление условий сохранения функциональной активности образцов при их длительном хранении при комнатной температуре. В представленной работе измерение электрических потенциалов ($\Delta\psi$) в мембранных везикулах (хроматофорах) из пурпурной бактерии *Rhodobacter sphaeroides*, ассоциированных с поверхностью нитроцеллюлозного мембранного фильтра (МФ), а также погруженных внутрь него, в присутствии экзогенных медиаторов и дисахарида трегалозы продемонстрировало увеличение амплитуды и стабилизацию сигнала при стационарном освещении. Хотя стабилизация фотоэлектрических ответов при длительном стационарном освещении наблюдалась в обоих случаях иммобилизации хроматофоров, только при погружении образцов внутрь МФ сохранялась функциональная активность фотосинтетических реакционных центров сохранялась в течение месяца при хранении в темноте при комнатной температуре. Этот крайне простой способ иммобилизации хроматофоров, вероятно, позволяет сохранить интактность фотосинтетических мембранных белков внутри пор МФ при комнатной температуре в течение длительного периода времени. Полученные результаты позволят расширить современные представления об использовании полусинтетических структур на основе различных интактных фотосинтетических систем, способных эффективно осуществлять перенос электронов за пределы трансмембранных светозависимых белков и преобразовывать солнечную энергию в электрохимическую форму.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (РНФ), грант № 23-74-00025.

**ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ БИКАРБОНАТА В ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОМ
ЭЛЕКТРОННОМ ТРАНСПОРТЕ ПУТЕМ АНАЛИЗА БЫСТРОГО ИЗМЕНЕНИЯ
ВЫХОДА ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА А ТИЛАКОИДОВ НА СВЕТУ**

**Investigation of bicarbonate role in photosynthetic electron transport in
thylakoids by means of analysis of fast changes of chlorophyll *a*
fluorescence yield in the light**

Маркин Р.В., Козулева М.А., Иванов Б.Н.*

Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр
биологических исследований Российской академии наук», Институт
фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

*e-mail: romanmarkin998@gmail.com, тел. +7 985 0931499

Фотосистема 2 (ФС2) содержит атом негемового железа, который может обратимо присоединять бикарбонат-ион как бидентатный лиганд. Удаление бикарбоната приводит к замедлению переноса электронов от первичного хинонового акцептора Q_A к вторичному хиноновому акцептору Q_B вследствие увеличения окислительно-восстановительного потенциала пары Q_A/Q_A^- (1). Предполагается также, что связанный в ФС2 бикарбонат участвует в защите ФС2 от фотоингибирования.

Влияние увеличения содержания бикарбоната в среде инкубации на фотосинтетический электронный транспорт в изолированных тилакоидах гороха (*Pisum sativum*) и арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*, экотип Columbia-0), в которых бикарбонат был удален при помощи обработки формиатом натрия, было исследовано путем анализа индукции выхода быстрой, 1 сек, флуоресценции хлорофилла *a* (ОЛП-кривых). Используемый анализ ОЛП-кривых позволял вычислить амплитуды и константы скорости реакции первого порядка фаз О-Ж, Ж-И и IP ОЛП-кривых (2).

Было найдено, что обработка тилакоидов формиатом вызывает увеличение амплитуды и уменьшение константы скорости фазы О-Ж, что согласуется с данными о влиянии связанного бикарбоната на окислительно-восстановительный потенциал пары Q_A/Q_A^- . Увеличение концентрации бикарбоната в среде с обработанными формиатом тилакоидами уменьшало амплитуду и увеличивало константу скорости этой фазы, которые при концентрации 5.0 мМ достигали значений в необработанных формиатом тилакоидах. Обработка формиатом уменьшала амплитуду и увеличивала константу скорости фазы Ж-И, которая отражает транспорт электронов «после» Q_A . Уже при концентрациях

бикарбоната 0.1-0.5 мМ происходило уменьшение константы скорости этой фазы до значений, которые были даже несколько ниже таковых в необработанных формиатом тилакоидах и при дальнейшем увеличении концентрации бикарбоната до 5 мМ мало изменялись. При этом амплитуда фазы J-I возрастала при увеличении концентрации бикарбоната вплоть до 5 мМ, приближаясь к величине в необработанных формиатом тилакоидах. На константу скорости фазы IP не влияли ни обработка формиатом, ни последующее увеличение содержания бикарбоната в среде.

Достижение постоянных величин констант скорости фаз O-J и J-I при концентрациях бикарбоната, отличающихся почти на порядок, может свидетельствовать о влиянии этого иона не только на окислительно-восстановительный потенциал пары Q_A/Q_A^- , но и на перенос электронов на других участках фотосинтетической электрон-транспортной цепи.

Показано, что присутствие бикарбоната в среде во время освещения светом высокой интенсивности приводит к ослаблению фотоингибирования ФС2.

Работа поддержана грантом РФФ № 22-74-10088.

Литература.

1. Brinkert K, De Causmaecker S, Krieger-Liszkay A, Fantuzzi A, Rutherford AW (2016) PNAS, 113 (43), 12144–12149.
2. Boisvert S, Joly D, Carpentier R (2006) The FEBS journal, 273 (20), 4770–4777.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АКЦЕПТОРНОГО УЧАСТКА ФОТОСИСТЕМЫ 1 С ЭКЗОГЕННЫМИ РЕДОКС-МЕДИАТОРАМИ И КИСЛОРОДОМ

Interaction of photosystem I acceptor region with exogenous redox mediators and oxygen

Милановский Г.Е.^{1*}, Петрова А.А.¹, Черепанов Д.А.^{1,2}, Семенов А.Ю.¹

¹Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Федеральный исследовательский центр химической физики имени Н.Н. Семенова Российской академии наук, Москва, Россия

*e-mail: milanovsky@genebee.msu.ru, тел. +7 495 9393188

Комплексы фотосистемы 1 (ФС1) в норме *in vivo* используют энергию кванта света для переноса электронов к водорастворимому природному акцептору ферредоксину на стромальной стороне тилакоидной мембраны. В экспериментах с выделенными комплексами в качестве терминального акцептора обычно используются экзогенные редокс-медиаторы, такие как аскорбат натрия и метилвиологен. В рамках данной работы было исследовано взаимодействие ФС1 с экзогенными редокс-медиаторами 2,6-дихлорфенол-индофенолом (DCPIP) и N,N,N,N'-тетраметил-р-фенилендиамином в окислительных и восстановительных условиях при разделении зарядов в ФС1 в ответ на одиночную лазерную вспышку. Эффективность DCPIP как акцептора электронов зависела от pH среды; эта зависимость не может быть объяснена рK самого DCPIP. Ранее на мутанте *menB* цианобактерии *Synechocystis sp.* был продемонстрирован отток электронов с вторичного акцептора филлохинона A₁ в отсутствие искусственных экзогенных акцепторов [1], что было интерпретировано как свидетельство прямой реакции A₁ с растворённым в окружающей среде молекулярным кислородом. Взаимодействие ФС1 с экзогенными акцепторами электрона на микроскопическом (атомарном) уровне было изучено методами молекулярно-динамического моделирования на примере обнаруженного возможного сайта связывания молекулярного кислорода вблизи филлохинона A₁. Связывание экзогенных акцепторов электрона (молекулярного кислорода и DCPIP) с ФС1 может контролироваться микроскопическими особенностями строения стромальной стороны этого пигмент-белкового комплекса.

Работа выполнена при поддержке РНФ (грант №23-74-00025).

Литература.

1. Milanovsky et.al. (2017) Photosynth Res 133: 185-199.

**РОЛЬ КИНАЗЫ SnRK1 в РЕГУЛЯЦИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО
МЕТАБОЛИЗМА *ARABIDOPSIS THALIANA* в ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ И
ПРИ СОЛЕВОМ СТРЕССЕ**

**The role of SnRK1 kinase in the regulation of photosynthetic metabolism in
Arabidopsis thaliana in optimal conditions and under salt stress**

Муртузова А.В. *, Тютерева Е.В., Войцеховская О.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук,
Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: AMurtuzova@binran.ru, тел. +7 960 4157406

Растения – автотрофные фотосинтезирующие организмы, запасрующие энергию света в виде сахаров. Молекулы сахаров и сахарофосфатов выступают метаболическими регуляторами активности важнейших киназ растений [1]. Киназа SnRK1 является сенсором энергетического статуса растительной клетки и активируется низким уровнем сахаров, запуская катаболические и ингибируя анаболические процессы [2,3].

Солевой стресс оказывает комплексный негативный эффект на метаболизм растений [4], в том числе и на фотосинтетическую функцию хлоропластов, что приводит к изменению уровня сахаров в клетке [5]. Исследование роли SnRK1 в фотосинтетическом метаболизме при стрессе представляет интерес для получения стрессоустойчивых высокопродуктивных растений.

Нами впервые изучена роль SnRK1 в регуляции фотосинтетического метаболизма в оптимальных условиях и при засолении у линий *Arabidopsis thaliana* с разным уровнем экспрессии гена, кодирующего каталитическую субъединицу SnRK1 KIN10. Были оценены фенотипические изменения листьев и измерены показатели эффективности ФСИ и ФСII (Y(I), Y(II), (Y(NPQ))), компоненты электрохимического градиента ($\Delta\Psi$, ΔpH , V, g), синтез АТФ.

У растений дикого типа и у генотипов с высоким уровнем активности SnRK1-киназы (KIN10OX) солевой стресс вызывал хлороз и скручивание листьев. В линиях со сниженным содержанием SnRK1 (KIN10RNAi) фенотипические изменения листьев не наблюдались. У генотипов KIN10OX при солевом стрессе наблюдались увеличение Y(II) и Y(I) и снижение NPQ. У дикого типа, напротив, снижались Y(II), Y(I) и возрастало NPQ, а у растений KIN10RNAi отсутствовал выраженный ответ

на солевой стресс на уровне фотохимической активности хлоропластов. Содержание АТФ в проростках KIN10OX при солевом стрессе не отличалось от значений дикого типа, а у KIN10RNAi наблюдалось снижение АТФ. Примечательно, что в листьях растений KIN10OX обнаружено устойчивое снижение амплитуды формирующейся на свету транстилакоидной протондвижущей силы (pmf), причем и в оптимальных условиях выращивания, и при солевом стрессе. Снижение pmf было связано с более низким уровнем $\Delta\Psi$, что является защитным механизмом, препятствующим фотоповреждению ФСII [6].

Мы предполагаем, что SnRK1 индуцирует изменение потоков ионов через тилакоидные мембраны на свету, что оказывает защитное действие при накоплении натрия и хлора в хлоропластах и обеспечивает поддержание активности фотосистем при засолении.

Литература.

1. Baena-González E., et al. (2007) A central integrator of transcription networks in plant stress and energy signalling. *Nature*, 448, 938–42
2. Baena-González E., Sheen J. (2008). Convergent energy and stress signaling. *Trends Plant Sci.* 13, 474–482
3. Zhai Z., et al. (2018). Trehalose 6-phosphate positively regulates fatty acid synthesis by stabilizing *WRINKLED1*. *Plant Cell*, 30, 2616–2627
4. Pan T., et al. (2021). Non-stomatal limitation of photosynthesis by soil salinity. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 51, 791–825
5. Awlia M., et al. (2016). High-throughput non-destructive phenotyping of traits that contribute to salinity tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Front Plant Sci.* 7:1414
6. Davis G. A., et al. (2016). Limitations to photosynthesis by proton motive force-induced photosystem II photodamage. *elife*, 5, e16921

РЕГУЛЯЦИЯ РАЗМЕРА СВЕТОСОБИРАЮЩЕЙ АНТЕННЫ ФОТОСИСТЕМЫ 2 В РАСТЕНИЯХ *ARABIDOPSIS THALIANA* БЕЗ АЛЬФА-КАРБОАНГИДРАЗЫ 2

Regulation of the size of light harvesting antenna in *Arabidopsis thaliana* plants without alpha-carbonic anhydrase 2

Надеева Е.М., Ветошкина Д.В., Руденко Н.Н.,
Игнатова Л.К., Иванов Б.Н.*

Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН» – обособленное подразделение Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

*e-mail: zhurikova-alena@yandex.ru

Карбоангидразы (КА) – ферменты, которые катализируют обратимую гидратацию углекислого газа $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$. В тилакоидной мембране хлоропластов обнаружено несколько КА. По нашим данным, одной из этих КА может быть альфа-КА2 (α -КА2) [1,2].

Ранее нами показано, что в растениях *Arabidopsis thaliana* без α -КА2 светоиндуцированное содержание пероксида водорода в листьях [1], величина ΔpH и относительный уровень восстановления пула пластохинона [2] были ниже по сравнению с соответствующими величинами растений дикого типа (ДТ), причем у мутантных растений наблюдалась более низкая способность осуществлять процесс state transition по сравнению с растениями ДТ [2]. Работа посвящена оценке размера светособирающей антенны фотосистемы 2 в мутантных растениях без α -КА2.

Эксперименты проводили на растениях *A. thaliana* ДТ и мутантных растениях с нокаутированным геном *At2g28210*, кодирующим α -КА2. Растения выращивали с 8-часовым фотопериодом при интенсивности света 50-70 мкмоль квантов $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ и концентрации CO_2 400 ppm.

Содержание мажорных белков светособирающей антенны Lhcb1 и Lhcb2, измеренное с помощью Вестерн-блот анализа, было в мутанте на 15-20% выше, чем в ДТ. При этом в мутанте по α -КА2 уровень экспрессии гена *lhcb1* был значительно выше, чем в ДТ, а гена *lhcb2* не отличался от ДТ. В работе [3] показано, что перекись водорода, образующаяся с участием пула пластохинона, играет роль сигнальной молекулы в регуляции размера антенны фотосистемы 2 у высших растений. Нами было обнаружено, что при освещении светом высокой интенсивности в тилакоидной мембране мутантных растений пероксида водорода образуется меньше, чем в мембране растений ДТ. Уровни экспрессии

генов, отвечающих за передачу сигнала из хлоропласта в ядро о развитии абиотического стресса, *ptm* и *abi4*, оказались ниже в мутанте, чем в ДТ. Таким образом, мутантные растения без α -КА2 стремятся к увеличению «поглощения» солнечной энергии через увеличение размера светособирающей антенны ФС2. Такое свойство мутантных растений может быть критичным для них при постоянно изменяющихся условиях освещения.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ (№ 22-74-10088). <https://rscf.ru/project/22-74-10088/>.

Литература.

1. Zhurikova E. M. et al. Participation of two carbonic anhydrases of the alpha family in photosynthetic reactions in *Arabidopsis thaliana* //Biochemistry (Moscow). – 2016. – Т. 81. – С. 1182-1187.
2. Nadeeva E. M. et al. Features of Photosynthesis in *Arabidopsis thaliana* Plants with Knocked Out Gene of Alpha Carbonic Anhydrase 2 //Plants. – 2023. – Т. 12. – №. 9. – С. 1763.
3. Borisova-Mubarakshina M. M. et al. Photosynthetic antenna size regulation as an essential mechanism of higher plants acclimation to biotic and abiotic factors: the role of the chloroplast plastoquinone pool and hydrogen peroxide //Vegetation index and dynamics. – IntechOpen, 2021

**МЕХАНИЗМ УЧАСТИЯ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В РЕГУЛЯЦИИ РАЗМЕРА
ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АНТЕННЫ ФОТОСИСТЕМЫ 2**

**Mechanism of hydrogen peroxide involvement in the regulation of photosynthetic
photosystem antenna size 2**

*Николаев А.А., Новичкова Н.С.,
Ветошкина Д.В., Борисова-Мубаракишина М.М.*

Институт фундаментальных проблем биологии РАН Федерального
исследовательского центра «Пушкинский научный центр биологических
исследований Российской академии
наук», Пушкино, Россия

**e-mail: nikolaevtolya@list.ru; тел: +7 919 3415270*

Уменьшение размера антенны фотосистемы 2 (ФС 2) – известный механизм адаптации растений к стрессовым факторам среды. Одним из таких факторов, например, является высокая интенсивность света. Известно, что накопление пероксида водорода (H_2O_2) в хлоропластах при повышенной освещенности приводит к подавлению экспрессии ядерных генов, кодирующих белки внешнего светособирающего комплекса ФС 2 (Lhcb белки) и, таким образом, к уменьшению размера антенны ФС 2. Согласно литературным данным, экспрессия *lhcb* генов блокируется вследствие связывания транскрипционного фактора ABI4 с промоторными последовательностями *lhcb* генов. Активация ABI4 осуществляется другим транскрипционным фактором, РТМ, связанным с оболочкой хлоропластов, который переходит в растворимую форму и оказывается в цитоплазме после отщепления трансмембранного домена с помощью сериновой протеазы, расположенной также на мембране хлоропласта. К настоящему времени механизм активации этой протеазы до сих пор не расшифрован. Учитывая сигнальную роль H_2O_2 в изменении размера антенны ФС 2, нами было проведено исследование влияния H_2O_2 в разных концентрациях на активность сериновой протеазы оболочки хлоропластов.

В экспериментах на изолированной оболочке хлоропластов шпината было обнаружено, что H_2O_2 , действительно, влияет на активность мембранной сериновой протеазы; при этом наблюдаемый эффект зависит от концентрации H_2O_2 . Для подтверждения влияния H_2O_2 на активность именно сериновой протеазы эксперименты проводили в отсутствие и в присутствии PMSF – специфического ингибитора сериновых протеаз. Инкубирование изолированной оболочки хлоропластов с H_2O_2 в

концентрациях от 25 до 100 мкМ приводило к значительному увеличению активности сериновой протеазы. При дальнейшем увеличении концентрации H_2O_2 до 750–1000 мкМ наблюдали ингибирующий эффект. Кроме того, в условиях, при которых наблюдается уменьшение размера антенны ФС 2 и накопление H_2O_2 , т.е. при высокой интенсивности света (500 мкмоль квантов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$), в листьях *Arabidopsis thaliana* происходило увеличение экспрессии как генов, кодирующих транскрипционные факторы РТМ и ABI4, так и гена, кодирующего мембранную сериновую протеазу.

Таким образом, полученные данные расшифровывают механизм участия H_2O_2 в регуляции размера антенны ФС 2: установлено, что H_2O_2 в концентрациях, детектируемых в растениях при действии стрессовых факторов, активирует сериновую протеазу оболочки хлоропластов, являющуюся одним из ключевым звеньев сигнального пути, приводящего к подавлению экспрессии *lhcb* генов. Более того, при повышенной освещенности растений увеличение экспрессии генов, кодирующих основные компоненты данного сигнального пути, а именно РТМ, ABI4 и сериновой протеазы, указывает на важность его функционирования при адаптации растений к стрессовым условиям среды.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 23-14-00396); <https://rscf.ru/project/23-14-00396/>.

**ВЛИЯНИЕ МУТАЦИИ *CHLORINA-F2.3613* НА ОНТОГЕНЕЗ И
ТРАНСКРИПТОМНЫЕ ПРОФИЛИ ЛИСТЬЕВ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ ПРИ
РАЗЛИЧНОЙ ОСВЕЩЕННОСТИ**

**Effect of *chlorina-f2.3613* mutation on developmental transition and leaf
transcriptomic profiles of barley grown at different light intensities**

*Павлов И.Б. *, Тютерева Е.В., Войцеховская О.В.*

Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской Академии Наук,
Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: IPavlov@binran.ru, тел. +7 920 1866914

Линия *chlorina-f2.3613* ячменя несёт мутацию в гене хлорофиллид *a*-оксигеназы, приводящую к полной потере хлорофилла *b* [1]. Мутация влияет не только на организацию и функционирование фотосинтетического аппарата, но и на пути физиологической и онтогенетической регуляции растений [2]; однако причины ее плейотропного действия неясны. В поле мутанты, как правило, характеризуются задержкой роста и онтогенеза, и низкой продуктивностью. Тем не менее, эффективность использования света в фотосинтезе у мутантов *chlorina* выше, чем у дикого типа, и известны случаи формирования мутантом *chlorina-f2.3613* высокопродуктивного фенотипа [2, 3].

Мы изучали развитие дикого типа и мутанта при низкой, средней и высокой интенсивности светодиодного освещения (300, 600 и 1500 мкмоль фотонов/м²с) при коротком (8/16) световом дне. По сравнению с солнечным спектром, световые условия характеризовались повышением доли синего и красного света и снижением - ультрафиолетового, желтого, зеленого и дальнего красного. В этих условиях (данные для 600 мкмоль фотонов/м²с) в листьях мутанта была подавлена экспрессия генов, кодирующих криптохромы: *HvCRY1(a/b)* в начале светового дня, и *HvCRY2* в конце светового дня и ночью.

Показано, что у дикого типа кушение наступало тем быстрее, и происходило тем интенсивнее, чем выше был уровень освещённости. У мутанта выявлялась задержка наступления кушения как при низкой, так и при высокой освещённости, а при среднем уровне отличия от дикого типа были минимальны. Затенение растений с 1500 до 600 мкмоль фотонов/м²с приводило к снижению образования вторичных и третичных побегов у дикого типа, и третичных побегов у мутанта, по сравнению с незатенёнными растениями.

При выращивании на 1500 мкмоль фотонов/м²с у мутанта в фазе позднего кущения наблюдался фенотипический переход, выражающийся в резком усилении кущения, накоплении хлорофилла *a* и снижении доли отмирающей биомассы. У растений дикого типа при выращивании на 1500 мкмоль фотонов/м²с отмечалась высокая лимитация ФСІ акцепторами (Y(NA)); однако у *chlorina-f2.3613* этот параметр снижался.

Сравнение транскриптомных профилей показало, что высокий свет вызывает у мутанта снижение активности киназных сигнальных путей, однако фотосинтетические и метаболические процессы, напротив, активируются, чем может объясняться гиперпродукция биомассы. В случае затенения у мутанта существенно повышена экспрессия транскрипционных факторов, в т.ч. реагирующих на стресс. Выявленные группы дифференциально экспрессирующихся генов позволяют предположить возможные механизмы плейотропного действия мутации *chlorina-f2.3613*.

Литература.

1. Simpson D.J., Machold O., Høyer-Hansen G., von Wettstein D. (1985) *Chlorina* mutants of barley (*Hordeum vulgare* L.), *Carlsberg Res. Commun.*, 50:223-238
2. Tyutereva, E.V., Ivanova, A.N. & Voitsekhovskaja, O.V. (2014) On the role of chlorophyll *b* in ontogenetic adaptations of plants. *Biol Bull Rev* 4, 507–514.
3. Tyutereva, E.V., Voitsekhovskaja, O.V. (2011) Responses of chlorophyll *b*-Free *chlorina 3613* barley mutant to a prolonged decrease in illuminance: 1. Dynamics of chlorophyll content, growth, and productivity. *Russ J Plant Physiol* 58, 1–8.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СВОБОДНОЙ ЭНЕРГИИ РЕАКЦИЙ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНА В КОМПЛЕКСАХ ФОТОСИСТЕМЫ 1 ИЗ *SYNECHOCYSTIS* SP. PCC 6803 И *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII*

Energetics of the electron transfer reactions in photosystem I from *Synechocystis* sp. PCC 6803 and *Chlamydomonas reinhardtii*

Петрова А.А.^{1*}, Вишневская А.И.², Милановский Г.Е.¹, Черепанов Д.А.¹, Семенов А.Ю.¹, Козулева М.А.³

¹Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

³Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Пушкино, Россия

*e-mail: draparnaldia@gmail.com, тел. +7 915 2967973

Фотосистема 1 (ФС1) использует энергию кванта света для создания низкого восстановительного потенциала. Средноточечный редокс-потенциал (E_m) филлохинонов A_{1A} и A_{1B} в симметричных ветвях редокс-кофакторов A и B $< -0,6$ мВ ниже предела окислительно-восстановительного титрования. Значения E_m могут быть экспериментально определены только исходя из данных по кинетике реакций, в которых участвуют эти кофакторы [1–3]. В данной работе мы исследовали кинетику реакций переноса электрона между A_{1A} и $4Fe_4S$ кластерами F_X и F_A/F_B в комплексах ФС1 из цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 и зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* с помощью микросекундной абсорбционной спектrophотометрии. Были определены константы скоростей и значения свободной энергии (ΔG) реакций $A_{1A} \rightarrow F_X$ и $F_X \rightarrow F_A/F_B$. Показано, что в ФС1 из *C. reinhardtii* ΔG реакции переноса электрона $A_{1A} \rightarrow F_X$ на 30 мВ меньше, чем в ФС1 из *Synechocystis* sp. Это объясняет замедление прямого переноса электрона и менее эффективное восстановление экзогенного акцептора электронов метилвиологена комплексами ФС1 из *C. reinhardtii*.

Работа выполнена при поддержке РНФ (грант №23-74-00025).

Литература.

1. Makita et al., (2015) Biochim Biophys Acta Bioenerg 1847: 343-354.
2. Petrova et al., (2017) Photosynth Res 133: 175-184.
3. Milanovsky et al., (2017) Photosynth Res 133: 185-199.

**ГИБРИДНЫЕ ВАРИАНТЫ КСАНТОРОДОПСИНА *SALINIBACTER RUBER*,
ОБЛАДАЮЩИЕ ПОВЫШЕННОЙ СТАБИЛЬНОСТЬЮ**

Hybrid variants of xanthorodopsin from *Salinibacter ruber* with increased stability

Петровская Л.Е.^{1*}, Большаков В.А.^{1,2}, Крюкова Е.А.¹,
Лукашев Е.П.², Максимов Е.Г.²

¹Институт биоорганической химии имени М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Биологический факультет, Москва, Россия

*e-mail: lpetr65@yahoo.com

Микробные родопсины – мембранные светочувствительные белки, содержащие хромофор ретиналь и широко используемые в оптогенетике. Ксантородопсин *S. ruber* (XR) является первым изученным ретинальным белком, содержащим дополнительный каротиноид в качестве светособирающей антенны [1]. Ранее нами была разработана система экспрессии XR в клетках *E. coli*, однако полученный белок обладал низкой стабильностью в апо-форме (без каротиноида) в мицеллах детергента [2]. Для повышения его термической стабильности мы сконструировали серию гибридных белков, содержащих замены фрагментов последовательности рекомбинантного XR на участки гомологичного родопсина *G. violaceus* (GR). Данный родопсин также может связывать каротиноид, однако, в отличие от XR, обладает высокой стабильностью в присутствии детергента в апо-форме.

В результате экспрессии в *E. coli* получен ряд гибридных белков XR-GR и изучены их свойства. Обнаружено, что замена петли между альфа-спиралями D и E XR на аналогичную петлю GR приводит к повышению температуры плавления соответствующих вариантов. Варианты XG8 и XG9, содержащие замены спиралей CD и DE соответственно, продемонстрировали существенное повышение термостабильности по сравнению с рекомбинантным XR. Для варианта XG8 также показано значительное увеличение скорости фотоцикла и амплитуды светоиндуцированных изменений pH в суспензии клеток по сравнению с апо-формами GR и XR. Таким образом, оптимизация аминокислотной последовательности на основании гомологии с термостабильным родопсином является эффективным подходом для повышения термической стабильности XR.

Работа проводится при финансовой поддержке гранта РНФ № 22-14-00104.

Литература.

1. S.P. Balashov, E.S. Imasheva, V.A. Boichenko, J. Antón, J.M. Wang, J.K. Lanyi (2005) Xanthorhodopsin: a proton pump with a light-harvesting carotenoid antenna, *Science*, 309, 2061-2064.
2. L.E. Petrovskaya, E.P. Lukashev, E.N. Lyukmanova, M.A. Shulepko, E.A. Kryukova, R.H. Ziganshin, D.A. Dolgikh, E.G. Maksimov, A.B. Rubin, M.P. Kirpichnikov, J.K. Lanyi, S.P. Balashov (2023) Expression of Xanthorhodopsin in *Escherichia coli*, *Protein J*, 42, 408-420.

КВАНТОВЫЕ МОДЕЛИ ПЕРВИЧНЫХ ПРОЦЕССОВ ФОТОСИНТЕЗА

Quantum modeling the primary processes of photosynthesis

Пищальников Р.Ю.^{1}, Разживин А.П.²*

¹Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук,
Москва, Россия

²НИИ Физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Московский
государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

**e-mail: rpishchal@kapella.gpi.ru, тел. +7 499 5038222*

Связь между технологическим прогрессом в области спектроскопии и развитием теоретических методов, в сочетании с улучшением доступных вычислительных возможностей, привела к существенному росту понимания свойств биологических фотоактивных систем, в частности, таких как фотосинтетические пигмент-белковые комплексы (ПБК). Сверхбыстрые спектроскопические методы, разработанные в последние десятилетия, позволили собрать огромное количество информации об отклике этих систем на световое возбуждение и, косвенно, о деталях динамики возбужденных состояний ПБК. Возможность исследовать события, происходящие на все более коротких временных масштабах, выявила новые явления и открыла новые вопросы. Какие процессы, имеющие химическое и биологическое значение, происходят в субпикосекундной области? Какова природа возникающих электронных состояний? Являются ли они делокализованными по нескольким пигментам? По каким путям происходит релаксация и утилизация поглощенной энергии в ПБК? Какова роль ближайшего белкового окружения в индуцированных процессах передачи энергии? [1]

Для исследования физико-химических свойств ПБК и выявления их структурно-функциональных особенностей необходимо сокращать сложность системы, разбивая исследуемые объекты на более мелкие (поддающиеся изучению) фрагменты. Задача состоит в том, чтобы ввести разумные приближения, которые сохраняют физико-химические свойства всей системы и при этом позволяют проводить расчеты. Такой редукционистский подход приводит к возможности очень точно оценивать характеристики одной молекулы или небольших групп молекул - задача, которую квантовая химия сегодня способна решить во многих интересующих нас случаях.

Целью данного доклада является сжатое представление обширного массива теоретических методов, разработанных к настоящему времени,

для определения устоявшихся концепций и выявления все еще нерешенных проблем. Также будет рассмотрен вопрос моделирования экспериментальных данных, связанный, прежде всего, с оценкой статистической значимости и однозначности теоретических параметров, используемых для расчётов оптического отклика. Одним из возможных путей решения данной проблемы является применение эвристических эволюционных алгоритмов оптимизации, которые сейчас активно используются в прикладных задачах математического моделирования физических сред. В частности, нами была разработана и успешно опробована методология моделирования линейного и нелинейного оптического отклика как для мономерных пигментов в растворителях [2,3], так и для ПБК [4] с помощью алгоритма дифференциальной эволюции.

Литература.

1. Jang SJ, Mennucci B (2018) Reviews of Modern Physics. Vol. 90(3). 035003.
2. Chesalin DD, Kulikov EA, Yaroshevich IA, Maksimov EG, Selishcheva AA, Pishchalnikov RY (2022) Swarm and Evolutionary Computation. Vol. 75. 101210.
3. Pishchalnikov RY, Yaroshevich IA, Zlenko DV, Tsoraev GV, Osipov EM, Lazarenko VA, Parshina EY, Chesalin DD, Sluchanko NN, Maksimov EG (2023) Photosynthesis Research. Vol. 156. pp. 3-17.
3. Chesalin DD, Razjivin AP, Dorokhov AS, Pishchalnikov RY (2023) Algorithms. Vol. 16(1). 3.

ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СИГНАЛЫ С НИЗКОЙ АМПЛИТУДОЙ КАК ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ ВЛИЯНИЯ УМЕРЕННЫХ СТРЕССОРОВ НА ФОТОСИНТЕЗ И ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТЬ ПШЕНИЦЫ

Electrical signals with low amplitudes as a potential mechanism of influence of moderate stressors on photosynthesis and drought tolerance in wheat

Попова А.Ю., Золин Ю.А., Сухова Е.М., Сухов В.С., Юдина Л.М.*

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»,
Нижний Новгород, Россия

**e-mail: SilverKumiho@mail.ru, тел. +7 920 2931430*

Фотосинтез обеспечивает продуктивность растений и, следовательно, играет ключевую роль в их жизни. Неравномерное действие многочисленных стресс-факторов на растительный организм требует существования распространяющихся сигналов, обеспечивающих системный ответ растения на локальное действие таких стрессоров. Считается, что электрические сигналы со значительной амплитудой (потенциал действия, переменный потенциал) могут выступать в роли этих сигналов, вызывая множество физиологических ответов и повышая устойчивость растений. Однако, результаты наших недавних работ предварительно показали, что подобную роль могут также играть электрические сигналы с низкой амплитудой, которые возникают при действии на растения умеренных стрессоров (например, нагрев до 40°C или его комбинация с освещением). Целью настоящей работы стал дальнейший анализ роли таких сигналов в регуляции фотосинтеза и устойчивости растений.

Объектом исследования служили растения пшеницы, выращенные на почве в естественных условиях, но с контролируемым поливом (3 раза в неделю). При индукции почвенной засухи полив прекращали. Электрические сигналы вызывали комбинацией умеренного нагрева и освещения кончика листа, в отдельной серии экспериментов использовали локальное повышенное давление. Электрическую активность регистрировали экстраклеточно. Измерение параметров фотосинтеза (нефотохимическое тушение флуоресценции, NPQ, и квантовый выход фотосистемы II, YII) проводили с использованием РАМ-флуориметра Open FluorCam FC 800-O/1010.

Показано, что локальная стимуляция умеренным нагревом и освещением вызывала у пшеницы как деполяризационные, так и

гиперполяризационные электрические сигналы с низкой амплитудой (менее 10-15 мВ). Распространение таких сигналов вызывало достоверное возрастание NPQ и снижение YII на небольших расстояниях от зоны воздействия; по мере увеличения расстояния эффект инактивации фотосинтеза исчезал. При умеренной засухе распространение сигнала вызывало более масштабную инактивацию фотосинтеза: сильное возрастание NPQ на расстояниях 5, 7 и 9 см и снижение YII на расстояниях 5 и 7 см от зоны стимуляции. Сильная засуха приводила к подавлению как электрических сигналов, так и ответов фотосинтеза.

Локальное повышенное давление приводило к распространению как гиперполяризационных (умеренное повышение давление), так и деполаризационных (сильное повышение) электрических сигналов, вызывая достоверные изменения NPQ и YII. Эти результаты подтверждают гидравлический механизм распространения электрических сигналов с низкой амплитудой.

Кроме того, показано, что индукция электрических сигналов и развитие фотосинтетических ответов на фоне умеренной засухи способствовала более высокому итоговому уровню биомассы растений и содержанию фотосинтетических пигментов (оцененных по NDVI), что показывает положительное влияние выявленных сигналов на засухоустойчивость пшеницы.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФН № 21-74-10088.

**ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ФОТОСИСТЕМЫ 2 В ПРИСУТСТВИИ
ОКИСЛЕННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПЛАСТОХИНОНА**

**Changes in the functioning of photosystem 2 in the presence of oxidized
plastoquinone derivatives**

Пыхова Е.С.^{1,2}, Вильянен Д.В.¹, Ашихмин А.А.¹,
Борисова-Мубаракишина М.М.¹*

¹Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное
подразделение ФИЦ Пушинский научный центр биологических
исследований РАН, Пушкино, Россия

²Пушинский филиал федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования «Российский
биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)», Пушкино, Россия

**e-mail: katkapw@yandex.ru, тел. +7 912 5518685*

Пластохинон – подвижный мембранный переносчик электронов между фотосистемой 2 (ФС2) и цитохромным *b₆f*-комплексом в тилакоидной мембране растений; при этом пул пластохинона в основном представлен пластохиномом А (ПХ-А) с девятичленной изопреноидной боковой цепью. В фотоингибирующих условиях ПХ-А может реагировать с синглетным кислородом, вследствие чего образуются т.н. окисленные производные пластохинона с измененным строением боковой цепи: гидроксипластохинон (ПХ-С), содержащий гидроксильные группы в боковой цепи, и пластохинон В (ПХ-В), который является сложным эфиром ПХ-С и жирных кислот. Известно, что ПХ-С может накапливаться в листьях даже после кратковременного воздействия света высокой интенсивности. Однако до сих пор неясно, как появление окисленных производных пластохинона в тилакоидной мембране влияет на активность ФС2 в фотосинтетической электрон-транспортной цепи.

Цель данного исследования заключалась в оценке влияния ПХ-А и ПХ-С на активность изолированной ФС2. Объектом изучения были мембранные частицы, обогащенные ФС2, изолированные из шпината (*Spinacia oleracea*), и пластохинон, выделенный и очищенный из листьев высших растений (шпинат, амарант, свекла). Пластохинон экстрагировали из листовой биомассы и очищали с помощью ВЭЖХ. Эксперименты проводили с липосомами со встроенным ПХ-А и ПХ-С. ПХ-С получали инкубацией ПХ-А с фотосенсибилизатором бенгальским розовым под воздействием белого света, после чего экстрагировали и очищали с помощью ВЭЖХ.

Эффективность встраивания ПХ-А и ПХ-С в ФС2 была проверена с помощью ЛР-теста и кислородного электрода Кларка. Показано, что при низких концентрациях ПХ-С более эффективен в качестве медиатора электронов между Q_B сайтом ФС2 и феррицианидом калия, чем ПХ-А, а при высоких – наоборот. Высказано предположение, что ПХ-А и ПХ-С обладают разным сродством к ФС2, причем изменение концентрации этих хинонов существенным образом сказывается на активности ФС2, что указывает на разную роль ПХ-А и ПХ-С в регуляции фотосинтеза.

Работа поддержана Российским научным фондом (грант № 23-14-00396), <https://rscf.ru/project/23-14-00396/>.

**АНАЛИЗ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ
В УСЛОВИЯХ СДВИГОВ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ОПТИМУМОВ РАБОТЫ
ФЕРМЕНТОВ ЭТЦ и ЦИКЛА КАЛЬВИНА**

**Analysis of a mathematical model of photosynthetic processes under conditions of
changing temperature optimums of ETC enzymes and Calvin cycle enzymes**

Ратницына Д.А., Сухова Е.М., Сухов В.С.

Национальный исследовательский Нижегородский государственный
университет имени Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

**e-mail: Dasha-lola1997@mail.ru, +7 910 131 00 92*

Постоянно меняющиеся условия окружающей среды могут влиять на большинство физиологических процессов растений, включая фотосинтез. При этом освещение является не только источником энергии для фотосинтетических процессов, но и важным регуляторным фактором. С другой стороны, избыточное освещение может вызывать фотоповреждение, степень которого варьирует в зависимости от соотношения активности световой и темновой стадий фотосинтеза.

Еще одним важным абиотическим фактором, влияющим на фотосинтез, является температура. Исследование совместного действия неоптимальной температуры и избыточного освещения имеет большое значение для развития подходов к повышению устойчивости продукционного процесса растения; в частности, важен анализ такого действия в условиях сдвига температурных оптимумов фотосинтетических процессов.

Целью настоящей работы стал теоретический анализ совместного влияния температуры и освещения на фотоповреждение фотосинтетического аппарата в условиях сдвига температурного оптимума световой и темновой стадии. Для анализа была использована разработанная ранее математическая модель фотосинтеза (Ratnitsyna et al., 2023), базирующаяся на модели Farquhar-Von Caemmerer Berry (FvCB), которая включала в себя упрощенное описание световой и темновой стадий фотосинтеза. В разработанную модель был дополнительно встроен блок, описывающий фотоповреждение процессов электрон-транспортной цепи фотосинтеза (ЭТЦ), а также влияние температуры на фотосинтетические процессы.

В ходе анализа математической модели был показан сложный характер воздействия температуры на величину фотоповреждения ЭТЦ. При повышении температуры от 10°C до 42°C наблюдалось сначала

снижение фотоповреждения, затем увеличение и вновь небольшое снижение при высоких температурах. Такие многофазные зависимости можно объяснить различной температурной зависимостью активностей линейного электронного потока и Рубиско, так как ферменты ЭТЦ и Рубиско имеют различные температурные оптимумы. На основе анализа модели, было далее показано, что сближение температурных оптимумов работы ферментов ЭТЦ и Рубиско, приводит к качественному изменению формы температурной кривой фотоповреждения. Наоборот, снижение температурного оптимума активности ЭТЦ или увеличение оптимума активности цикла Кальвина усиливает фотоповреждение без изменения формы зависимости.

Полученные результаты показывают кооперативный эффект взаимодействия процессов световой и темновой стадий фотосинтеза. Это стоит учитывать при разработке методов увеличения устойчивости конкретных фотосинтетических процессов растения к неблагоприятному воздействию избыточного освещения и температуры, поскольку сдвиг температурного оптимума (например, увеличение оптимума для Рубиско) может оказать негативное влияние на устойчивость растений к избыточному свету в условиях повышенных температур.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 23-14-00127).

Литература.

1. Ratnitsyna D, Yudina L, Sukhova E, Sukhov V. (2023) *Plants* 12: 3211.

ВЛИЯНИЕ АНОМАЛЬНЫХ СВЕТО-ТЕМНОВЫХ ЦИКЛОВ НА УРОЖАЙНОСТЬ И КАЧЕСТВО МИКРОЗЕЛЕНИ БРОККОЛИ, МИЗУНЫ И РУКОЛЫ

Effect of abnormal light-dark cycles on yield and quality of broccoli, mizuna and arugula

Рубаева А.А., Шерудило Е.Г., Шибаева Т.Г.*

Федеральный исследовательский центр «Карельский научный центр
Российской академии наук», Петрозаводск, Россия

**e-mail: arubaeva@krc.karelia.ru, тел. +7 911 4011005*

Микрозелень в основном выращивают на «фабриках растений», закрытых производственных системах с полностью контролируемыми условиями выращивания для круглогодичного производства. Наиболее перспективными для повышения энергоэффективности производства на «фабриках растений» и улучшения качества растительной продукции считаются манипуляции со световым фактором, с которым связаны основные затраты на энергопотребление. Распределение интеграла дневного освещения (фотопериод $\times$ освещенность) на «фабриках растений» не обязательно должно учитывать 24 ч продолжительность суток и может быть реализовано в рамках аномальных (отличных от 24 ч) свето-темновых циклов. Цель работы заключалась в изучении влияния удлиненных свето-темновых циклов 24/12 и 48/24 ч на продуктивность и пищевую ценность микрозелени трех видов семейства *Brassicaceae* – брокколи, мизуны и руколы.

Результаты работы показали, что изменения показателей продуктивности (сырой и сухой вес, индекс робастности) и отдельных показателей пищевой ценности (содержание хлорофилла, каротиноидов, антоцианов, флавоноидов, белка, растворимых углеводов) в ответ на удлиненные свето-темновые циклы, носили, как правило, разнонаправленный характер. В большинстве случаев растения демонстрировали признаки развития легкого окислительного стресса и, соответственно, изменения в пигментном комплексе, направленные на защиту от избыточного света, хотя суммарно за время опыта растения и не получали избытка фотонов света. Вероятно, фотозащитные реакции развивались в ответ на длительное (24 и 48 ч) действие света в первой части свето-темнового цикла. Кроме того, режимы свето-темновых циклов были такими, что растения могли освещаться во время скотофильной фазы и наоборот, во время фотофильной фазы могла быть темнота. Повидимому, такие режимы поступления света способны приводить к

рассогласованию эндогенных (циркадных) биоритмов с внешним циклом свет/темнота, что также может вызывать неспецифические защитные реакции.

Из полученных результатов следует, что с помощью определенных аномальных свето-темновых циклов можно вызывать изменения в содержании определенных групп пигментов. При этом увеличение интеграла дневного освещения не является обязательным условием для запуска у растений фотозащитных реакций, приводящих к выработке определенных фитохимических веществ, которые могут являться ценными метаболитами, повышающими пищевую ценность растений. Аномальные свето-темновые циклы, подобранные с учетом видовой специфики, могут быть нацелены на определенные аспекты продуктивности и качества микророзелени.

Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 23-16-00160).

**ПОЛУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНО-АКТИВНОГО ПРЕПАРАТА TAP38/PPH1
ФОСФАТАЗЫ *ARABIDOPSIS THALIANA***

Preparation of functionally active TAP38/PPH1 phosphatase *Arabidopsis thaliana*

*Рыжих Ю.С., Позднякова-Филатова И.Ю. *, Ветошкина Д.В.*

Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр
биологических исследований Российской академии наук»,
Пушино, Россия

**e-mail: irafilatova24@gmail.com*

TAP38/PPH1 фосфатаза расположена в тилакоидной мембране хлоропластов и осуществляет дефосфорилирование белков светособирающей антенны фотосистемы 2 (ССК2) в ходе одного из этапов state transitions. State transitions - механизм перераспределения поглощенной солнечной энергии между фотосистемами, является одним из механизмов краткосрочной адаптации. Первый шаг в этом процессе - активация STN7 киназы, которая фосфорилирует белки, Lhcb1 и Lhcb2, внешней светособирающей антенны ФС 2, в результате чего ССК2 отсоединяются от ФС 2 и связываются с ФС 1. Процесс является обратимым и в темноте, в результате активности TAP38/PPH1 фосфатаза происходит дефосфорилирование ССК2 белков и возвращение комплексов к ФС2. Механизм регуляции state transitions в высших растениях при изменении условий окружающей среды до конца не известен. При исследовании регуляции процесса state transitions внимание уделяется только активности STN7 киназы, в то время как регуляция активности TAP38/PPH1 фосфатазы практически не изучена. В связи с этим целью настоящей работы было получение функционально-активного препарата TAP38/PPH1 фосфатазы для изучения регуляции ее активности *in vitro*.

Мы амплифицировали 3 фрагмента ДНК, которые кодируют не содержащую сигнальный пептид TAP38/PPH1 фосфатазу (41-388, 63-388 и 59-351 аминокислотных остатка). Ампликоны клонировали в плазмидном векторе pET19mod, после чего трансформировали штамм *E.coli* BL21(DE3)pLysE полученными рекомбинантными плазмидами. Клетки культивировали на среде Lysogeny broth при температуре 18°C в течение 20 часов, синтез целевого белка индуцировали добавлением ИПТГ до конечной концентрации 20 мкМ.

Активный центр TAP38/PPH1 фосфатазы содержит ионы марганца. В отсутствии ионов марганца в среде культивирования белки

ТАР38/РРН1(41-388) и ТАР38/РРН1 (63-388) находились исключительно в тельцах включения, в то время как белок ТАР38/РРН1(59-351) находился и в тельцах включения, и в растворимой форме. В присутствии ионов марганца в среде культивирования в растворимой форме удалось получить ТАР38/РРН1 (63-388) и ТАР38/РРН1(59-351), хотя преимущественно целевые белки по-прежнему находились в тельцах включения.

Для тестирования активности полученных препаратов использовали тилакоиды, изолированные из растений *Arabidopsis thaliana* с заблокированным синтезом ТАР38/РРН1, эти растения содержат значительное количество фосфорилированных белков ССК2 даже в темноте. Препарат ТАР38/РРН1 (63-388) проявлял дефосфорилирующую активность только в отношении белка светособирающего комплекса Lhcb1, но не Lhcb2. Препарат ТАР38/РРН1(59-351) проявлял дефосфорилирующую активность в отношении обоих белков.

Полученные в работе препараты являются функционально-активными, что позволяет использовать их для изучения регуляции активности ТАР38/РРН1 фосфатазы *in vitro*.

Работа поддержана грантом РНФ № 22-74-10088, <https://rscf.ru/project/22-74-10088/>.

**ВНЕСЕНИЕ МЕЖСУБЪЕДИНИЧНЫХ ДИСУЛЬФИДНЫХ СВЯЗЕЙ В
РЕАКЦИОННЫЙ ЦЕНТР *CEREIBACTER SPHAEROIDES* КАК ПОДХОД ДЛЯ
СТАБИЛИЗАЦИИ СТРУКТУРЫ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА**

**Introduction of intersubunit disulfide bonds into the reaction center of
Cereibacter sphaeroides as an approach to stabilize the structure of the
photosynthetic complex**

*Селиханов Г., Фуфина Т., Яхимчук Д., Атамас А.,
Васильева Л.* , Габдулхаков А.*

Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр
биологических исследований Российской академии наук»,
Пушино, Россия

*e-mail: vsyulya@mail.ru, тел: +7 915 0833799

Метод сайт-направленного мутагенеза успешно используется в структурно-функциональных исследованиях фотосинтетических реакционных центров (РЦ). Замечено, что многие мутации вблизи кофакторов переноса электрона приводят к снижению стабильности комплекса, что затрудняет процесс выделения и очистки РЦ, а также его кристаллизацию. Из литературы известно, что дисульфидные связи участвуют в стабилизации третичной и четвертичной структуры ряда белков. Целью данной работы было исследование возможности стабилизации структуры РЦ *C. sphaeroides* путем введения дополнительных дисульфидных мостиков как между α -спиралями одной субъединицы, так и между L- и M- субъединицами реакционного центра. Для внесения дисульфидных связей были выбраны позиции в структуре РЦ, удаленные от кофакторов активной цепи переноса электрона, чтобы исключить влияние на фотохимическую активность комплекса. Были внесены следующие двойные направленные мутации в L- и M-субъединицы РЦ: V(M84)C/G(L278)C, A(L53)C/I(L64)C, A(L172)C/L(L246)C, A(L37)C/S(L99)C и G(M19)C/T(L214)C. Были получены кристаллы мутантных РЦ, выполнен рентгеноструктурный анализ и расшифрована структура пяти мутантных комплексов V(M84)C/G(L278)C (PDB ID: 8C7C), A(L53)C/I(L64)C (PDB ID: 8C6K), A(L172)C/L(L246)C (PDB ID: 8C87), A(L37)C/S(L99)C (PDB ID: 8C5X) и G(M19)C/T(L214)C (PDB ID: 8C88). Анализ структуры РЦ мутантов показал, что дисульфидные мостики образуются при внесении парных цистеиновых остатков ближе к цитоплазматической или периплазматической поверхности мембраны (мутации

V(M84)C/G(L278)C, A(L53)C/I(L64)C и G(M19)C/T(L214)C). Измерение оптических спектров образцов при 48° в течение часа показало, что мутации, приводящие к образованию дисульфидных связей между M и L субъединицами, способствуют повышению термостабильности РЦ. Мутации A(L53)C/I(L64)C, приводящие к образованию дисульфидного мостика внутри одной субъединицы, не способствуют повышению стабильности РЦ. Таким образом, впервые показано, что внесение межсубъединичных дисульфидных связей способствует повышению стабильности РЦ и не оказывает влияния на его спектральные и фотохимические свойства. Данный подход может быть применен для стабилизации мутантных РЦ с целью их дальнейшего исследования.

Литература.

Selikhhanov, G., Atamas, A., Yukhimchuk, D., Fufina, T., Vasilieva, L., Gabdulkhakov, A. Stabilization of *Cereibacter sphaeroides* Photosynthetic Reaction Center by the Introduction of Disulfide Bonds. *Membranes* 2023, 13, 154. <https://doi.org/10.3390/membranes13020154>

ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ ПРЯМОГО И ОБРАТНОГО ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ В ФОТОСИСТЕМЕ 1 С ПОМОЩЬЮ ВЫСОКОЧАСТОТНОЙ ЭПР-СПЕКТРОСКОПИИ

Семенов А.Ю.¹, Суханов А.Н.², Мамедов М.Д.¹,
Салихов К.М.², Милановский Г.Е.¹

¹НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Казанский физико-технический институт им. Е.К. Завойского, ФИЦ Казанский научный центр РАН, Казань, Россия

e-mail semenov@belozersky.msu.ru

С помощью импульсной высокочастотной ЭПР спектроскопии в полосе Q при криогенных температурах впервые одновременно исследованы кинетики восстановления первичного донора электрона димера хлорофилла P_{700}^{+} и окисления филохинонного акцептора электрона A_1^{-} в комплексах фотосистемы 1 (ФС 1) из цианобактерий *Synechocystis sp.* PCC 6803 во временном диапазоне 200 мкс – 15 мс. В комплексах A_1 -core ФС 1, не содержащих железосерных кластеров, кинетики исчезновения сигналов A_1^{-} и P_{700}^{+} совпадают и имеют характерное время ~500 мкс, обусловленное рекомбинацией зарядов в ион-радикальной паре $P_{700}^{+}A_1^{-}$. В интактных комплексах ФС 1, содержащих полный набор редокс-кофакторов, кинетики исчезновения сигналов A_1^{-} и P_{700}^{+} различались. Исчезновение сигнала A_1^{-} имело более быстрое характерное время 280 мкс, и, вероятно, было обусловлено комбинацией сильно замедленного прямого переноса электрона с A_1^{-} на железосерный кластер F_X и обратного переноса электрона с A_1^{-} на P_{700}^{+} . В кинетике восстановления P_{700}^{+} можно выделить компоненты, обусловленные обратным переносом электрона с A_1^{-} (~500 мкс, 66%) и с 4Fe-4S кластеров (>5 мс, 34%). Эти результаты хорошо согласуются с полученными ранее данными по кинетике восстановления P_{700}^{+} , измеренными с помощью импульсной абсорбционной спектроскопии при криогенных температурах.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (РНФ), грант № 23-74-00025.

**НЕАННОТИРОВАННЫЙ БЕЛОК КОМПЛЕКСА RC-LH1 ФОТОТРОФНОЙ
ПУРПУРНОЙ БАКТЕРИИ *RHODOPSEUDOMONAS PALUSTRIS***

**Unannotated Protein Of The Core Complex Rc-Lh1 Of The Phototrophic Purple
Bacterium Rhodopseudomonas Palustris**

Сердюк О.П., Абдуллатыпов А.В.

Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр
биологических исследований Российской академии наук»,
Пушино, Россия

**e-mail: serdyuko@rambler.ru тел. +7 916 6911846*

Комплекс RC-LH1 часто называют основным (core), поскольку передача энергии возбуждения с антенного комплекса (LH1) на комплекс реакционного центра (RC) и разделения в нем зарядов инициирует последующий перенос электронов, протонов, образование хинола, который окисляется цитохромным комплексом bc₁. Трансмембранные αβ пептиды LH1 комплекса образуют замкнутые кольца или разомкнутые для облегчения диффузии хинолов/хинонов между RC и комплексом цитохрома bc₁.

Первая кристаллографическая структура комплекса RC-LH1 *Rps. palustris* с разрешением 4,5 Å (1) предполагала, что RC окружен 15-гетеродимерным кольцом LH1, прерванным неизвестным белком, обозначенным как «белок-W». Недавно представленные две криоэлектронно-микроскопические структуры комплексов RC-LH1 *Rhodopseudomonas palustris* предполагают, что комплекс RC-LH114-W (разрешение 2,65 Å) состоит из 14 субъединиц открытого кольца LH1, окружающего RC, прерываемого белком-W, тогда как комплекс с LH1 без белка-W (разрешение 2,80 Å) включающий RC, полностью окружен замкнутым кольцом из 16 субъединиц.

Нами из *Rps. palustris*, выращенной в условиях низкой освещенности, был получен RC-LH1, в котором методом HPLC MS-MS спектрометрии помимо αβ белков LH1 и белков триады RC был обнаружен неаннотированный белок (Q132I5_RHOPS) массой 9,6 кДа. Ранее нами в периферическом комплексе LH2 из этой же бактерии методом масс-спектрометрии был обнаружен неаннотированный белок Q6N9P5 (3). Сравнение аминокислотных последовательностей этих двух белков в BLAST показало сходство между ними 86%. Впоследствии криоэлектронная микроскопия комплекса LH2 из *Rps. palustris* (4) показала, что белок Q6N9P5 находится в предельно развёрнутом

состоянии, охватывая снаружи две трети субъединиц LH2-комплекса (шесть из девяти димеров альфа-бета субъединиц). Авторы назвали данный белок γ -субъединицей светособирающего комплекса.

Какова структура и функция неаннотированного белка Q132I5_RHOPS в RC-LH1 Rps. palustris предстоит установить.

Литература.

1. Roszak A. W., Howard T. D, Southall J. et al. Crystal structure of the RC-LH1 core complex from *Rhodospseudomonas palustris* Science (2003) 302(5652):1969-72. doi:10.1126/science.1088892.
2. Swainsbury, D.J.K., Qian, P., Jackson, P.J., Faries, K.M., Niedzwiedzki, D.M., Martin, E.C. et al. (2021) Structures of *Rhodospseudomonas palustris* RC-LH1 complexes with open or closed quinone channels. Sci. Adv. 7, eabe2631, <https://doi.org/10.1126/sciadv.abe2631>.
3. Serdyuk O. P., Abdullatypov A.V., Smolygina L.D., Ashikhmin A.A., Bolshakov M.A. Simultaneous functioning of different light-harvesting complexes – a strategy of adaptation of purple bacterium *Rhodospseudomonas palustris* to low illumination conditions. Peer J (OPEN ACCESS) (2023) p. 1-23. DOI 10.7717/Peer J.14769. Published 31 January 2023.
4. Qiana P., Nguyen-Phanb C.T., Gardiner A. T. et al. Cryo-EM structures of light-harvesting 2 complexes from *Rhodospseudomonas palustris* reveal the molecular origin of absorption tuning. PNAS 2022 Vol. 119 No. 43 e2210109119 doi.org/10.1073/pnas.2210109119.

**ИНДЕКСЫ ОТРАЖЕНИЯ КАК ИНСТРУМЕНТ ДИСТАНЦИОННОГО
МОНИТОРИНГА ФОТОСИНТЕЗА РАСТЕНИЙ: ПОДХОДЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ**

**Reflectance indices as a tool of remote sensing of photosynthesis in plants:
approaches and perspectives**

*Сухов В.С. *, Сухова Е.М.*

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Россия

**e-mail: vssuh@mail.ru, тел. +7 909 2928653*

Фотосинтез, лежащий в основе продуктивности растений, существенно зависит от факторов среды и может нарушаться при действии стрессоров. Разработка методов своевременного выявления такого действия и оценки фотосинтетических характеристик в неблагоприятных условиях является важной фундаментальной и прикладной задачей для сельского хозяйства и экологического мониторинга. Мульти- и гиперспектральный имиджинг является эффективной основой дистанционного мониторинга процессов фотосинтеза.

Безразмерные индексы отражения, обычно рассчитываемые на основании величины отражения в двух или трех узких спектральных полосах, широко используются для оценки объема фотосинтезирующей биомассы и содержания фотосинтетических пигментов у растений. Это позволяет применять ряд индексов (например, нормализованный вегетационный индекс, NDVI) в качестве основы для простых моделей первичной продуктивности растений на экосистемном и глобальном уровне. Однако, такие модели обеспечивают лишь приблизительную оценку фотосинтеза и продукционного процесса, а также требуют введения поправочных коэффициентов для конкретных условий.

Фотохимический индекс отражения (PRI) является более специализированным инструментом для быстрой и дистанционной оценки фотосинтетических показателей на основании простых регрессионных моделей; однако, эффективность его применения может существенно варьировать, вследствие низкой величины изменений индекса и участия различных механизмов в их формировании. Повышение эффективности использования PRI для оценки фотосинтетических характеристик может базироваться на измерении его светоиндуцированных изменений, применении модифицированных PRI и анализе особенностей пространственного распределения этого индекса.

Еще один путь оценки фотосинтетических характеристик базируется на применении математических моделей с несколькими «входами», в качестве которых, в частности, могут быть использованы различные комбинации PRI, NDVI, интенсивности индуцированной солнечным светом флуоресценции и показателей устойчивой проводимости, базирующихся на измерении температуры. Такой подход является достаточно перспективным; в частности, различные варианты моделей прогнозируют NPQ, нециклический поток электронов и фотосинтетическую ассимиляцию. Ограничения этого подхода обусловлены как сложностью одновременного измерения показателей, так и необходимостью адаптации моделей к различным условиям измерений.

Интерпретация результатов измерения индексов отражения и оценка фотосинтетических показателей может также опираться на анализ «механистических» математических моделей, описывающих процессы фотосинтеза и пути распространения света в листе или растительном покрове. Разработка и совершенствование таких моделей является важной задачей в области дистанционного мониторинга растений.

Наконец, определенным потенциалом для разработки инструментов оценки фотосинтетических характеристик по индексам отражения обладают методы машинного обучения, включая глубокое обучение.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 23-14-00127).

АНАЛИЗ ПЕРСПЕКТИВ ПРИМЕНЕНИЯ RGB-ИМИДЖИНГА ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ СТРЕССОРОВ

Analysis of perspectives of RGB-imaging for estimation of plant characteristics under action of stressors

*Сухова Е.М.**, *Золин Ю.А.*, *Попова А.Ю.*, *Сухов В.С.*

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
Ниžний Новгород, Россия

**e-mail n.catherine@inbox.ru, тел. +7 929 0402938*

Растения подвергаются действию неблагоприятных факторов, которые могут угнетать фотосинтез, снижая их продуктивность и подавляя рост и развитие. Использование оптических методов мониторинга, базирующихся на анализе отраженного света, позволяет осуществлять раннее выявление стрессовых изменений у растений и прогнозировать их урожайность. RGB имиджинг, опирающийся на анализ цветных изображений, является одним из самых доступных и технически простых методов оптического мониторинга. Однако использование RGB имиджинга для мониторинга растений, включая определение их фотосинтетических показателей, ограничено сложностью выявления ранних стрессовых изменений и количественной оценки физиологических показателей растения на основании цветовых параметров.

Важной предпосылкой RGB имиджинга является чувствительность широкополосных индексов отражения к воздействию стрессоров. Проведенные нами исследования с использованием гиперспектрального имиджинга гороха и пшеницы показали, что расширение спектральной полосы при расчете индексов отражения может приводить к запаздыванию их изменений при действии неблагоприятных факторов на растения (на примере, засухи и засоления). Однако некоторые широкополосные индексы (например, NRG1), которые близки к RGB индексам, могут сохранять высокую чувствительность к действию стрессоров. Полученные результаты показывают возможность использования RGB индексов для дистанционного мониторинга.

Далее была исследована возможность оценки величины узкополосных индексов отражения на основании RGB индексов, так как такая оценка позволяет использовать развитый инструментальный анализ узкополосных индексов без применения мульти- или гиперспектрального имиджинга. Было показано, что существует сильная связь между RGB индексами (включая gw, GRDIw, ExGw, ExRw, VEGw и VARIw) и

узкополосными индексами отражения (в частности, NDVI, OSAVI, NPCI, NPQI, PRI1, PRI2, ARI1 и Chappelle index). Были разработаны регрессионные модели, описывающие количественные связи между RGB индексами и узкополосными индексами отражения у растений.

Следующий блок исследований показал, что ряд RGB индексов демонстрирует сильную связь с показателями фотосинтеза (прежде всего, с F_v/F_m) и содержанием хлорофиллов; построены линейные регрессионные модели, описывающие такие связи. Таким образом, выявленные RGB индексы могут быть использованы для количественной оценки фотосинтетических показателей.

Для более глубокой интерпретации результатов RGB-имиджинга разработана комбинированная математическая модель, включающая в себя описание распространения света в листе (на основании 3-мерной системы поглощающих и рассеивающих свет элементов) и минимальную модель световой стадии фотосинтеза. Разработанная модель описывала спектры отражения и распределение света внутри листа, а также влияние флуоресценции и нефотохимического тушения на эти показатели.

Таким образом, мониторинг на основе RGB индексов является перспективным методом оценки состояния растений, включая их фотосинтетические показатели.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект 23-76-10048).

СНИЖЕНИЕ CO₂ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ *C. reinhardtii* ПОВЫШАЕТ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ФС2 К ФОТОИНГИБИРОВАНИЮ В МУТАНТЕ *cia3*

Decrease in CO₂ during growth of *C. reinhardtii* enhances the sensitivity of PSII to photoinhibition in the *cia3* mutant

*Терентьев В.В.**, *Шукина А.К.*, *Четверкина А.А.*

Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»,
Пушино, Россия

*e-mail: v.v.terentyev@gmail.com, тел. +7 999 7775555

C. reinhardtii способна к фототрофному росту в широких концентрациях CO₂, индуцируя карбон-концентрирующий механизм (ККМ) при низком CO₂. Некоторые мутанты, включая *cia3* с отсутствующей карбоангидразой САНЗ в люмене тилакоидов¹, требуют повышенного содержания CO₂ для фототрофного роста, как считается, в результате нарушения на одном из этапов ККМ. В данной работе предлагается альтернативная версия для мутанта *cia3*, указывающая на значительное возрастание чувствительности его фотосистемы 2 (ФС2) к фотоингибированию после акклиматизации к низкому CO₂. В отличие от клеток дикого типа (ДТ, СС-503) и *cia3*, выращенных при 5% CO₂, и ДТ адаптированных к низкому CO₂, значение эффективного квантового выхода ФС2 (Y(II)) в клетках *cia3*, акклиматизированных к низкому CO₂, снижалось наполовину при значительно более низких значениях интенсивности света, а максимальное значение скорости выделения O₂, измеренное для ФС2, отдельно от остальной ЭТЦ², было ниже на ~30% с достижением плато на световой кривой при в ~2 раза более низких интенсивностях света. Изучение кривых выделения O₂ выявило полное подавление выделения O₂ в течение 100 с при высокой интенсивности света. Клетки *cia3*, адаптированные к низкому CO₂, содержали значительно меньше белка D1 при одинаковом содержании белков водоокисляющего комплекса (PsbO, PsbP), указывая на большее содержание «разобранных» ФС2. Т.е., на сдвиг баланса в цикле «деградации-сборки» в сторону первого³. При этом не удалось выявить различий в содержании пигментов, что указывало на нестрессовую интенсивность света при выращивании⁴ и на отсутствие значительных перестроек в антенне.

Одним из возможных объяснений негативного действия низкого CO₂ на активность ФС2 *cia3* может следовать из данных о сверх

накоплении неорганического углерода (C_i) в клетках мутантов по гену *cah3* (до 13 раз по сравнению с ДТ (до ~13 мМ)), адаптированных к низкому CO_2 ⁵⁻⁶. Высокое содержание HCO_3^- в строме хлоропласта *cia3* может препятствовать фотоиндуцированной диссоциации иона HCO_3^- с донорной стороны ФС2, необходимой, как предполагается⁷, для снижения вероятности обратного переноса электрона с Q_A на Фео, и таким образом приводить к стимулированию 3Hл -опосредованного образования 1O_2 . Обычно высокое образование АФК в ФС2 прежде всего приводит к окислительной деградации D1⁸, снижение содержания которого было показано в работе.

Таким образом, повышенное фотоингибирование ФС2, а не снижение активности ККМ, может быть причиной угнетения фототрофного роста мутанта *cia3* при низком CO_2 .

Литература.

1. Terentyev V.V., Shukshina A.K. (2024) (Review) Cells, 13, 109.
2. Terentyev V.V., Shukshina A.K., Chetverkina A.A. (2023) Cells, 12, 907.
3. Terentyev V.V. (2021) Plants Physiology and Biochemistry, 168, 501-506.
4. Virtanen O., Valev D., Kruse O., Wobbe L., Tyystjärvi E. (2019) Photosynthetica, 617-626.
5. Spalding M.H., Spreitzer R.J., Ogren W.L. (1983) Plant Physiol. 73(2):268-72.
6. Duanmu D., Wang Y., Spalding M.H. (2009) Plant Physiol. 149(2):929-37.
8. Terentyev V.V. (2022) (Review) Biophysical Reviews, 14, 871-556.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГАЗОВОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧИСЛА ИОНОВ БИКАРБОНАТА, СВЯЗАННЫХ С ФОТОСИСТЕМОЙ 2

Тихонов К.Г.^{1}, Шевела Д.Н.², Смолова Т.Н.¹, Мессингер И.³*

¹Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия

²Умейский университет, Умео, Швеция

³Уппсальский университет, Уппсала, Швеция

**e-mail: ktikhonov@rambler.ru*

Более 20 лет назад профессором ИФПБ РАН В.В. Климовым с сотрудниками было обнаружено стимулирующее воздействие ионов бикарбоната на функционирование водоокисляющего комплекса фотосистемы 2. Поэтому было предположено, что бикарбонат входит в состав водоокисляющего комплекса, связываясь с марганцевым кластером или внешними белками. Для его обнаружения в настоящей работе было измерено общее содержание бикарбоната в фотосистеме 2. Был применён подход, основанный на использовании метки ^{18}O и газовой масс-спектрометрии. Извлечение CO_2 из образцов проводилось вакуумом масс-спектрометра, а не вытеснением формиатом, в результате чего не оставалось необнаружимого обменного бикарбоната. Предварительное насыщение образцов окружающим воздухом обеспечивало насыщение имевшихся мест связывания бикарбоната в образце. Показано, что мембранные препараты фотосистемы 2 содержат бикарбонат в количестве $1,1 \pm 0,1$ молекулы на один реакционный центр, а изолированный белок PsbO не содержит связанного бикарбоната. Предполагается, что обнаруженный бикарбонат связан с атомом негемового железа на акцепторной стороне фотосистемы 2, тогда как водоокисляющий комплекс не содержит связанного бикарбоната. Однако это не исключает того, что в окислении воды может участвовать несвязанный бикарбонат.

**ХАРАКТЕРИСТИКА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА
МУТАНТА ЯЧМЕНЯ *CHLORINA-F2.3613* В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ
ОСВЕЩЕННОСТИ С ПОМОЩЬЮ DUAL-KLAS-NIR**

**Photosynthetic electron transport in *chlorina-f2.3613* barley mutant grown at
different light regimens: a study using DUAL-KLAS-NIR**

*Тютерева Е.В.**, Павлов И.Б., Муртузова А.В., Войцеховская О.В.

Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской Академии Наук,
Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: ETutereva@binran.ru, тел. +7 960 2716160

Эффективность использования энергии света в фотосинтезе у мутантов с нарушениями биосинтеза хлорофилла *b* (*chlorina*) выше, чем у дикого типа. Однако, побочные эффекты мутации *chlorina* обычно сводят на нет потенциальную пользу от повышения эффективности фотосинтеза. При выращивании в открытом грунте *chlorina* демонстрируют сниженное содержание Хла, низкий уровень фотосинтетической фиксации CO₂, слабый рост, сниженное кущение и замедленное прохождение онтогенеза. В условиях климатических камер мутанты часто фенотипически не отличаются от дикого типа [1].

В организации фотосинтетического аппарата мутанты *chlorina* отличаются отсутствием тримеров LHCII и снижением белков LHCB4 и LHCB6. Это вызывает снижение NPQ, увеличение NO и усиление фотоповреждения ФС2; однако, мутанты отличаются и низким содержанием ФС1, и высоким уровнем ее лимитации NA [1, 2]. Низкое соотношение Y(I)/Y(II) позволило предположить, что *chlorina* неспособны активировать циклический электронный транспорт (CET) как один из важнейших механизмов защиты ФС1 от фотоповреждения: предположительно, в отсутствие CET ЭХГ на мембранах тилакоидов у мутанта образуется за счет ΔΨ, в то время как небольшой ΔpH не позволяет развить NPQ, а синтез АТФ снижается. Лимитация акцепторами ФС1 приводит к перевосстановлению пула пластохинонов и в целом к продукции супероксид-радикала и синглетного кислорода.

Причины изменения стехиометрии ФС1 и ФС2 у *chlorina* неясны; возможно это измененный ретроградный сигналинг или же конфликт пластидных сигналов. Выяснение вопроса, как функционируют все участники ЭТЦ у *chlorina*, принципиально для понимания фенотипических и транскрипционных изменений у мутантов в различных условиях освещения. На проростках и 17-26 дневных кустиках

растениях линии *chlorina-f2.3613* ячменя, выращенных в условиях длинного дня на низком или на высоком свете, изучили перераспределение энергии возбуждения между ФС, диссипацию избытка энергии и способность мутанта к формированию СЕТ. Фотохимическую активность ФС1 мутанта сравнивали с активностью ФС1 дикого типа, ингибированных короткими мощными вспышками света. Фотоингибирование ФС1 контролировали по снижению Y(I). С помощью DUAL-KLAS-NIR (Walz, Germany) по световым кривым флуоресценции и сигнала NIR оценили редокс состояние пула пластоцианина, P700 и ферредоксина. Уровень СЕТ определили по отклонению в линейной зависимости Y(I) и Y(II), а также по изменению скорости окисления P700 под действием ДКС. Полученные результаты обсуждаются в контексте особенностей структурно-функциональной организации тилакоидной мембраны мутантов *chlorina*.

Литература.

1. Zivcak et al. (2019) Phenotyping of isogenic chlorophyll-less bread and durum wheat mutant lines in relation to photoprotection and photosynthetic capacity, *Photosynth Res* 139:239–251.
2. Ferroni et al. (2020) Chlorophyll-depleted wheat mutants are disturbed in photosynthetic electron flow regulation but can retain an acclimation ability to a fluctuating light regime, *Environ Experimental Bot*, 178:104156.

КАРБОНГИДРАЗА ГРАНАЛЬНЫХ ТИЛАКОИДОВ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Granal thylakoid carbonic anhydrase from *Arabidopsis thaliana*

Хорошаева Т.П.

Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»,
Пушино, Россия

**e-mail: khoroshaeva.t@yandex.ru, тел. +7 918 3171360*

Карбоангидразы (КА) относятся к группе ферментов, катализирующих обратимую гидратацию углекислого газа. В ряде работ были получены свидетельства того, что в тилакоидной мембране высших растений расположены, не менее трех разных КА. Две из них – высокомолекулярная и низкомолекулярная – расположены в гранах, а третья – в стромальных тилакоидах.

Цель данной работы заключалась в изучении высокомолекулярной КА гран. После анализа результатов масс-спектрометрии белков гранальных тилакоидов было показано наличие в препарате пептидов, характеризующих КА других компартментов, таких как строма, цитоплазма и митохондрии. Это привело к необходимости дополнительной очистки гран. Ранее было установлено, что в стромальных тилакоидах находится только один источник карбоангидразной активности, альфа-КА5. Таким образом, использование растений с нокаутированным геном по данной КА, позволило изучить карбоангидразную систему гранальных тилакоидов без фрагментирования тилакоидной мембраны. Для удаления фракции митохондриальных белков, хлоропласты центрифугировали в градиенте перкола. Переосаждение мембран хлоропластов в присутствии БСА позволило удалить цитоплазматические и стромальные КА. Далее, с помощью аффинной хроматографии была получена КА гран, в количестве, достаточном для масс-спектрометрического анализа.

Было показано, что в гранах тилакоидов находится бета-КА5, как и предполагаемая КА в люмене. Это подтверждалось тем, что (1) КА гран и КА люмена имели максимальную активность при pH 8,75 и (2) обе они увеличивали свою активность в присутствии восстановителя -S-S- связей, дитиотрейтола, что характерно для КА, принадлежащих бета-семейству. Различие в активностях очищенных КА гран и люмена может указывать на то, что это две изоформы бета-КА5, которые аннотированы в базе данных Uniprot. Это, вероятнее всего, может свидетельствовать о том, что

нокаут гена, кодирующего бета-КА5 приводит к тому, что происходит ингибирование КА в двух важных участках растительной клетки: люмене тилакоидов и гранах, что, в свою очередь, сильно снижает витальность растительного организма. Результаты исследования указывают на перспективность изучения бета-КА5 как регулятора жизнеспособности растительного организма.

**КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ КРИВЫХ ИНДУКЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ
ХЛОРОФИЛЛА А С ПОМОЩЬЮ МАТЕМАТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ**

**Comprehensive analysis of chlorophyll *a* fluorescence transients using
mathematical methods**

Хрущев С.С., Плюснина Т.Ю., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б.*

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Биологический факультет, каф. биофизики, Москва, Россия

**e-mail: styx@biophys.msu.ru, тел. +7 495 9390289*

Анализ динамики изменения интенсивности флуоресценции хлорофилла *a* в ответ на включение света широко применяется для неинвазивного контроля состояния фотосинтетической электрон-транспортной цепи и активности первичных процессов фотосинтеза. Современные флуориметры позволяют получать, в том числе в автоматическом режиме, большие массивы кривых индукции флуоресценции, для анализа которых предложен ряд различающихся по сложности и информативности методов. В докладе рассматриваются математические методы анализа кривых индукции флуоресценции, реализованные в разработанном авторами свободно распространяемом программном пакете ruPhotoSyn.

Первую группу составляют методы, ориентированные на феноменологическое сравнение кривых – определение того, насколько отдельные кривые похожи друг на друга безотносительно причины различий. Эти методы позволяют визуализировать массив кривых в виде точек на плоскости – близко расположенные точки соответствуют схожим кривым, а непохожие друг на друга отображаются в виде точек, далеко отстоящих друг от друга. В эту группу входят линейный метод главных компонент (РСА), нелинейные методы *t*-SNE и UMAP, а также методы, основанные на использовании нейросетевых автокодировщиков. К методам, основанным на феноменологическом описании кривых, относится и метод спектральной мультиэкспоненциальной аппроксимации (СМЭА), позволяющий представить нарастающий участок кривой индукции флуоресценции в виде ступенчатой функции [1]. Такие методы позволяют наглядно визуализировать большие объёмы экспериментальных данных и выявлять аномалии во временных рядах, получаемых при наблюдении за ростом культуры или при экологическом мониторинге.

Вторая группа методов предназначена для идентификации параметров, характеризующих состояние фотосинтетического аппарата. Этих методы базируются на предложенной Рето Штрассером теории энергетических потоков и основанном на ней JIP-тесте [2], что позволяет получать информацию как об эффективности первичных процессов фотосинтеза в целом, так и об отдельных стадиях переноса электрона.

Программное обеспечение (ПО) ruPhotoSyn доступно по запросу. ПО имеет модульную архитектуру и может быть расширено путём подключения дополнительных модулей анализа. ПО может быть использовано как в интерактивном режиме, так и в составе автоматизированных систем обработки информации и принятия решений.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 22-11-00009.

Литература.

1. Плюснина Т.Ю., Хрущев С.С., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б. Анализ кинетики индукции флуоресценции хлорофилла с помощью спектральной мультиэкспоненциальной аппроксимации // Биофизика, 2015, т. 60, № 3, с. 487-495.
2. Strasser BJ, Strasser RJ (1995) Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP-test / In: Mathis P (ed), Photosynthesis: from light to biosphere. Springer, Dordrecht, pp 4869-4872. https://doi.org/10.1007/978-94-009-0173-5_1142

**ФЕМТОСЕКУНДНАЯ ДИНАМИКИ ВОЗБУЖДЕННЫХ СОСТОЯНИЙ
ХЛОРОФИЛЛА В ВОДОРАСТВОРИМОМ
ХЛОРОФИЛЛ-СВЯЗЫВАЮЩЕМ БЕЛКЕ BoWSCP**

*Черепанов Д.А.^{1,2}, Неверов К.В.³, Обухов Ю.Н.³, Гостев Ф.Е.¹,
Шелаев И.В.^{1,2}, Айбуш А.В.¹, Крицкий М.С.³*

¹Федеральный исследовательский центр химической физики
им. Н.Н. Семенова РАН, Москва, Россия

²Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им.
А.Н. Белозерского МГУ, Москва, Россия

³Институт биохимии им. А. Н. Баха, Федеральный исследовательский
центр «Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук, Москва, Россия

Белки семейства WSCP (Water Soluble Chlorophyll-binding Proteins) представляют собой тетрамерные комплексы, связывающие до четырёх молекул хлорофилла (Хл) *a* или Хл *a* + Хл *b*. Роль этих водорастворимых белков в растениях связана, как предполагают, с защитой растительной клетки от стрессов. Молекулы Хл в WSCP упакованы в виде двух димеров, при этом, с точки зрения экситонных взаимодействий, хромофорная группа WSCP может рассматриваться как тетрамер. Высокая термо- и фотостабильность белков WSCP делает их перспективной моделью для изучения пигмент-пигментных и пигмент-белковых взаимодействий, определяющих их уникальные физико-химические свойства.

Для изучения быстрых процессов релаксации энергии возбуждения в тетрамерном хромофорном комплексе в нашей работе был применен метод широкополосной фемтосекундной лазерной спектроскопии «возбуждение-зондирование». Была измерена абсорбционная динамика Хл *a* в белке WSCP класса IIa из *Brassica oleracea* (BoWSCP) в диапазоне от 400 до 750 нм с временным разрешением 20 фс-200 пс. При возбуждении BoWSCP в области полосы Core (430 нм) наблюдалась безызлучательная внутримолекулярная конверсия $S_3 \rightarrow S_1$ с характерным временем 83 ± 9 фс. При возбуждении комплекса в области полосы Q_y (670 нм, где, как показало моделирование спектров поглощения и анализ вторых производных, поглощает только Хл *a*) наблюдался релаксационный переход между двумя экситонными состояниями димера Хл со временем 105 ± 10 фс. Анализ переходных спектров BoWSCP, полученных на задержках 50 фс и 200 пс показал, что на коротких задержках хромофорная группа BoWSCP ведет себя как экситонно-сопряженный димер.

Было показано, что делокализация возбужденного состояния между экситонно-сопряженными молекулами Хл в тетрамере VoWSCP изменяется во времени и зависит от энергии возбуждения. Установлено, что при возбуждении VoWSCP в области полосы Core наблюдается сверхбыстрая фотохимическая реакция, обусловленная, возможно, восстановлением триптофана вблизи центра связывания Хл.

Работа поддержана грантом РНФ № 21-74-20155.

Литература.

1. Обухов Ю.Н., Неверов К.В., Малеева Ю.В., Крицкий М.С. Димеры хлорофилла а в составе водорастворимого белка VoWSCP фотосенсибилизируют восстановление цитохрома с // Доклады Академии наук. Науки о жизни. 2023. Т.509, С 88-92.
2. Д.А. Черепанов, К.В. Неверов, Ю.Н. Обухов, Ю.В. Малеева, Ф.Е. Гостев, И.В. Шелаев, А.В. Айбуш, М.С. Крицкий, В.А. Надточенко. Фемтосекундная динамика возбужденных состояний тетрамера хлорофилла в водорастворимом хлорофилл-связывающем белке VoWSCP // Биохимия. 2023. Т. 88. № 10. С.1580-1595.

ЭЛЕКТРОН-ФОНОННОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КАК ОПРЕДЕЛЯЮЩИЙ ФАКТОР ОПТИЧЕСКОГО ОТКЛИКА КАРОТИНОИДОВ

Electron-phonon interaction as a controlling factor in the spectroscopy of carotenoids

Чесалин Д.Д.^{1*}, Курков В.А.^{1,2}, Пищальников Р.Ю.¹

¹Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук,
Москва, Россия

²Московский физико-технический институт
(национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия

*e-mail: *genoa-and-pittsburgh@mail.ru*, тел. +7 916 8708827

Каротиноиды – широко распространенные в природе органические молекулы, синтезируемые водорослями, высшими растениями, бактериями и грибами. Они являются липофильными пигментами и локализуются в хромопластах и хлоропластах растений, а также в пигмент-белковых комплексах бактерий и водорослей [1]. Их большое разнообразие и простое химическое строение делают данный тип пигментов интересными с точки зрения моделирования их физико-химических свойств. Все каротиноиды состоят из полиеновой цепи и концевых групп, структура которых влияет на оптические свойства молекулы. Оптические свойства каротиноидов в видимом диапазоне определяются переходами между синглетными электронными состояниями, которые участвуют в переносе энергии в растительных и бактериальных пигмент-белковых комплексах.

Существует два основных способа вычисления оптического отклика органических молекул: моделирование возбужденных состояний молекулы из первых принципов – *ab initio* квантово-механические расчеты и использование полуклассических методов, основанных на вычислении корреляционных функций момента электронного перехода [2]. Из-за большого количества молекулярных степеней свободы *ab initio* методы менее предпочтительны, чем полуклассический подход. В его основе лежит модель системы гармонических осцилляторов с затуханием, взаимодействующих с электронным переходом. Такой подход обеспечивает удобный способ расчета комплексных корреляционных функций путем оценки функции спектральной плотности для непрерывного набора колебательных мод. Спектры поглощения органических молекул можно моделировать, рассматривая двухуровневую систему основного и возбужденного электронного

состояния. Возбужденное электронное состояние каротиноидов в этой области спектра соответствует оптически разрешенному $|S_2\rangle$ состоянию, так как переход из основного состояния $|S_0\rangle$ в состояние $|S_1\rangle$ оптически запрещен.

Каротиноиды имеют четыре основных моды колебаний, определяющих их оптические свойства: колебания двойных и одинарных углеродных связей, метильных групп и водорода. Помимо основных мод, в экспериментальных спектрах присутствуют вклады от их обертонов в высокоэнергетической области.

Для вычислений мы используем эвристический алгоритм дифференциальной эволюции, предназначенный для нахождения оптимума функций от большого числа переменных [3]. На примере спектров поглощения астаксантина и ликопина в полярных и неполярных растворителях моделирование позволяет статистически значимо определить эффективные параметры электрон-фононного взаимодействия, влияние каждой колебательной моды на профиль полосы поглощения, а также классифицировать спектры по типу полярности растворителя.

Литература.

1. Hashimoto H, Uragami C, Cogdell RJ (2016) Carotenoids and Photosynthesis. Carotenoids in Nature, 79:111-139.
2. Chesalin DD, Kulikov EA, Yaroshevich IA, Maksimov EG, Selishcheva AA, Pishchalnikov RY (2022) Swarm and Evolutionary Computation, 75, 101210.
3. Chesalin DD, Razjivin AP, Dorokhov AS, Pishchalnikov RY (2022) Algorithms, 16(1): 3.

**ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ СПЕКТРАЛЬНЫЕ ПРЕДИКТОРЫ
ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ**

Potential reflectance predictors of drought tolerance in wheat

Чурикова Д.М.*, Абдуллаев Ф.Ф., Ветрова Я.А., Шерстнева О.Н.

ННГУ имени Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

*e-mail: d.churikova00@mail.ru, тел. +7 922 8414791

В настоящее время в селекции широко исследуется возможность предсказания полезных свойств (продуктивность, засухоустойчивость) сельскохозяйственных культур на основании их характеристик в раннем возрасте. В частности, изучаются оптические свойства растений, методы регистрации которых позволяют быстро и неинвазивно получать необходимую информацию [1, 2].

Целью исследования стал поиск параметров отражения проростков пшеницы, способных стать предикторами засухоустойчивости в более позднем возрасте.

Объектами исследования стали проростки пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) яровой 20 сортов, выращенных в контролируемых условиях. Через 14 дней после высаживания в грунт у растений опытной группы прекращался полив, засуха продолжалась 10 дней.

В возрасте 14 и 24 дней оценивались параметры отражения растений (гиперспектральная камера Specim IQ, Spectral Imaging Ltd., Финляндия), фотосинтетической активности (система РАМ-имиджинга Plant Explorer Pro+, Phenovation B.V., Нидерланды) и транспирации (тепловизор testo 885, Testo, Германия). Также на 24 день у проростков обеих групп анализировались морфометрические параметры. В качестве основного критерия устойчивости побегов пшеницы к засухе использовалась величина остаточного сухого веса растений опытной группы в сравнении с контролем (Индекс засухоустойчивости). Связь параметров анализировалась с помощью корреляционного анализа.

Была показана отрицательная корреляционная зависимость параметров отражения 14-дневных проростков в диапазоне 715-1000 нм со значением Индекса засухоустойчивости. Значения интенсивности отражения использовались для расчета нормализованных разностных индексов (NDI), значения которых продемонстрировали статистически значимую отрицательную связь в области λ_1 730-990 нм, λ_2 410-690 нм с Индексом засухоустойчивости. Обнаруженные спектральные предикторы показали положительную корреляционную связь с параметрами

активности работы фотосистемы II и интенсивности транспирации в диапазоне 750-1000 нм. Наблюдаемая связь исследуемых параметров может быть обусловлена особенностями строения мезофилла листа, которые влияют как на оптические свойства побегов [3], так и на их физиологические характеристики и в результате на их устойчивость к засухе.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования параметров отражения света в качестве предикторов устойчивости проростков пшеницы к засухе, что можно использовать для отбора потенциально засухоустойчивых генотипов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00212.

Литература.

1. Sun D, Robbins K, Morales N, Shu Q, Cen H. Advances in optical phenotyping of cereal crops // Trends in Plant Science. 2022. Vol. 27. No. 2. P. 191-208.
2. Kim M, Lee C, Hong S, Kim S.L, Baek J.-H, Kim K.-H. High-Throughput Phenotyping Methods for Breeding Drought-Tolerant Crops // International Journal of Molecular Sciences. 2021. Vol. 22. No. 15. P. 8266.
3. Ustin SL, Jacquemoud S. How the optical properties of leaves modify the absorption and scattering of energy and enhance leaf functionality // Remote sensing of plant biodiversity. Springer International Publishing, 2020. С. 349-384.

**ПОИСК ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ И ГИПЕРСПЕКТРАЛЬНЫХ ПРЕДИКТОРОВ
ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ**

**Search for fluorescent and hyperspectral predictors of drought tolerance of
common wheat**

*Шерстнева О.Н.**, Абдуллаев Ф.Ф., Воденеев В.А.

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

*e-mail: sherstneva-oksana@yandex.ru, тел. +7 831 4623213

Важным направлением развития подходов к ускорению выведения новых сортов хозяйственно-значимых культур является внедрение лабораторного этапа исследований в селекционный процесс. Помимо генотипических методов, в последнее время большой интерес приобрели методы фенотипирования, в особенности неинвазивные оптические методики, позволяющие массово оценивать структурные и физиологические особенности растений в течение вегетационного периода.

Целью данной работы стал поиск параметров, определяемых оптическими методами, обладающих предсказательной способностью в отношении устойчивости пшеницы мягкой к почвенной засухе. Исследовались проростки *Triticum aestivum* L. 24 сортов, культивируемые в контролируемых условиях. В возрасте 2 недель регистрировались флуоресцентные и гиперспектральные параметры с помощью системы для РАМ-имиджинга Open FluorCam FC (Photon Systems Instruments, Чехия) и гиперспектральной камеры (Specim iq, Spectral Imaging Ltd., Финляндия), затем опытная группа подвергалась почвенной засухе. В качестве показателя засухоустойчивости определялся индекс, рассчитываемый по сухому весу контрольных и опытных растений через 2 недели стрессового воздействия.

Были обнаружены потенциальные флуоресцентные предикторы устойчивости пшеницы к дефициту почвенной влаги, в качестве которых выступали параметры активности фотосистемы II. Также были обнаружены гиперспектральные параметры, коррелирующие с засухоустойчивостью (интенсивность отражения и нормализованные разностные индексы, определяемые преимущественно в диапазоне ближнего инфракрасного излучения). Стоит отметить, что была выявлена статистически значимая связь между флуоресцентными и спектральными параметрами, продемонстрировавшими прогностический потенциал в

отношении засухоустойчивости. Были предположены структурные и функциональные особенности, лежащие в основе такой связи.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00212.

ФОТОПЕРИОДИЧЕСКИЙ СТРЕСС У РАСТЕНИЙ: ВРЕД И ПОЛЬЗА

Photoperiod stress in plants: harms and benefits

*Шубаева Т.Г. *, Титов А.Ф.*

Федеральный исследовательский центр «Карельский научный центр Российской академии наук», Институт биологии, Петрозаводск, Россия

**e-mail: shibaeva@krc.karelia.ru, тел. +7 921 4611116*

Сельское хозяйство в контролируемой среде (controlled environment agriculture, СЕА), которое включает в себя системы производства в закрытых помещениях и в теплицах, становится все более востребованным для круглогодичного удовлетворения потребностей в питании людей во всем мире, например, в северных регионах с холодными зимами с низкой освещенностью, в аридных зонах, где ограничено полевое сельское хозяйство, на островах из-за высоких расходов на ввоз и подверженности ураганам, а также в любом мегаполисе с плотным городским населением. Однако высокопроизводительные фабрики растений очень ресурсоемки, при этом на освещение тратится большая часть энергии. Использование энергии в непиковые часы является одним из путей повышения энергоэффективности производств. В связи с этим в последнее время усилился интерес к изучению реакции растений не только на интенсивность света и его спектральный состав, но и на фотопериод, или свето-темновые циклы, которые в условиях искусственного освещения не обязательно должны соответствовать 24-часовому природному циклу. Теоретически, если свет использовать в течение всех 24 часов, то интенсивность света можно уменьшить на одну треть при сохранении того же интеграла дневного освещения. Основным ограничением подобной стратегии является негативная реакция многих видов на круглосуточное освещение. В худшем случае это вызывает фотоповреждение листьев, влекущее за собой снижение жизнеспособности и урожайности растений.

Общей чертой всех растений является их приспособление к суточному фотопериоду, при котором световой (дневной) и темный (ночной) периоды чередуются в закономерном порядке. Изучение реакции растений на искусственное освещение в последние годы привело к появлению в литературе понятия фотопериодического стресса (photoperiod stress). Показано, что внезапные изменения фотопериода, в частности, его удлинение на несколько часов, могут вызывать окислительный стресс у растений, адаптированных к короткому дню. Сила стресса при этом зависит от длительности светового периода и

значительное его удлинение может быть вредным (дистресс), а непродолжительное, наоборот, может иметь положительный эффект (эустресс). Испытывая в таких условиях умеренный окислительный стресс, растения накапливают больше низкомолекулярных антиоксидантов (антоцианы, флавоноиды, каротиноиды, пролин) и отличаются повышенной активностью антиоксидантных ферментов, что повышает пищевую ценность растений, рекомендуемых в качестве функционального продукта (“functional food”) для здорового питания.

Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 23-16-00160).

**КАРБОАНГИДРАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ФОТОСИСТЕМЫ 2:
ОСОБЫЕ СВОЙСТВА И ЭФФЕКТИВНОСТЬ КАТАЛИЗА**

**Carbonic anhydrase activity of Photosystem II:
unique properties and catalysis efficiency**

Шитов А.В.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН Федеральный
исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических
исследований Российской Академии наук», Пушкино, Россия

e-mail: aleksshitow@rambler.ru, тел. +7 916 3617197

Фотосистема 2 (ФС-2) – это уникальный пигмент-белково-липидный комплекс окисняющих фотосинтезирующих организмов, обеспечивающий атмосферу молекулярным кислородом за счёт фотохимических реакций окисления воды под действием солнечного света. Эффективное функционирование этого комплекса лежит в основе продуктивности всех фотосинтетиков, так как он, извлекая электроны из воды, обеспечивает ими всю цепь переноса электрона в тилакоидах, а также реакции фиксации углекислого газа в цикле Кальвина. Одним из кофакторов обеспечения эффективного функционирования ФС-2 являются ионы бикарбоната. А. Стемлером и П. Юрсиником было высказано предположение, что для обеспечения необходимым количеством бикарбоната, в ФС-2 должны ускоряться реакции $\text{CO}_2 \leftrightarrow \text{HCO}_3^-$. Эти реакции в природе катализируются очень высокоактивными ферментами карбоангидразами (КА). В ФС-2 многих фотосинтетиков (кукуруза, горох, шпинат, одноклеточная водоросль *Chlamydomonas reinhardtii* и др.) также обнаружена карбоангидразная активность, но её носитель до сих пор не найден, за исключением *Chl. reinhardtii*. Некоторые авторы, находя КА активность ФС-2 более низкой, чем O_2 выделяющая активность, полагают, что найденная активность не связана с фотосинтетической и даже может быть примесью КА из стромы или цитоплазмы. Другие исследователи получили косвенные подтверждения взаимосвязи КА и фотосинтетической активностей, что говорит об участии первой в механизме функционирования ФС-2, а значит, в её эффективности. Таким образом, одной из фундаментальных задач при исследованиях молекулярного механизма функционирования ФС-2 является определение реальной карбоангидразной активности в ФС-2, её свойств и функций в этом комплексе.

В работе на субхлоропластных мембранных препаратах, обогащённых ФС-2 (т.н. ВВУ-частицы), выделенных из гороха (*Pisum sativum*), показано, что в оптимальных условиях (pH 6,5), в ВВУ-частицах наблюдается высокая КА активность (которая всего до 3 раз ниже одной из самых высокоактивных карбоангидраз – КА2 из эритроцитов быка). Анализируя результаты КА активности, измеренные разными методами, выяснено, что низкая активность, наблюдавшаяся ранее, была следствием недостаточно чувствительных методов измерений. Более того, экспериментально показана тесная взаимосвязь этой активности с фотосинтетической. Были выделены 2 особенности катализа КА в ФС-2: 1) Относительно низкая чувствительность к некоторым эффективным сульфаниламидным ингибиторам КАз, например ацетазоламиду (его 10 мкМ концентрация подавляет активность ФС-2 только на 50%, тогда как эта концентрация полностью ингибирует активность всех известных КАз. 2) pH зависимость активности КА в ФС-2 противоположна такой зависимости у других известных КАз. Это свидетельствует о том, что КА ФС-2 не является примесью других КАз, а является неотъемлемой функцией ФС-2. Таким образом, высокая КА активность, присущая ФС-2, непосредственно связана с её фотосинтетической активностью и, поэтому, выполняет важную роль в этой фотосистеме. Данные результаты открывают новое направление исследований механизма функционирования ФС-2.

**ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ
ОТВЕТЫ РАСТЕНИЙ: РОЛЬ H^+ -АТФАЗЫ**

**Influence of electrical signals on photosynthetic responses of plants:
role of H^+ -ATPase**

Юдина Л.М., Сухова Е.М., Сухов В.С.*

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский
государственный университет им. Н.И. Лобачевского»,
Нижний Новгород, Россия

**e-mail: lyubovsurova@mail.ru, тел. +7 915 9571127*

В природе на растения действуют многочисленные неблагоприятные факторы, для адаптации к которым растениям требуется наличие распространяющихся стрессовых сигналов. К таким сигналам относятся электрические сигналы, которые играют важную роль в развитии быстрых системных физиологических ответов растения, включая ответы фотосинтеза. Таким образом, анализ влияния различных типов электрических сигналов на фотосинтез и исследование механизмов такого влияния является важной научной задачей.

У растений, традиционно, выделяют несколько типов распространяющихся электрических сигналов: потенциал действия, переменный потенциал и системный потенциал. Кроме того, наши недавние работы показывают наличие у растений деполяризационных и гиперполяризационных электрических сигналов с низкой амплитудой, которые могут возникать при действии широко распространённых в природе умеренных стрессоров. По-видимому, механизмы генерации всех электрических сигналов у растений в той или иной мере сопровождаются снижением активности H^+ -АТФазы плазматической мембраны.

Показано, что различные типы электрических сигналов могут вызывать сходные изменения активности фотосинтетических процессов, включая снижение интенсивности ассимиляции CO_2 , уменьшение квантового выхода фотосистемы II и увеличение нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла. Такие изменения зачастую включают быструю и длительную инактивацию фотосинтеза.

Сопровождающая развитие электрических сигналов различных типов инактивация H^+ -АТФазы плазматической мембраны приводит к значительным изменениям внутри- и внеклеточного pH, что является ключевым звеном в развитии вызванных электрическими сигналами фотосинтетических ответов у высших растений.

В качестве вероятных путей участия изменений внутри- и внеклеточного pH в регуляции фотосинтеза электрическими сигналами можно выделить: (i) подавление темновой стадии фотосинтеза, связанное с защелачиванием апопласта и уменьшением проводимости мезофилла листа для CO₂ и также, возможно, с закрытием устьиц; (ii) изменение активности световой стадии фотосинтеза, связанное с закислением цитоплазмы, стромы и люмена хлоропластов, путём возрастания энергозависимой компоненты нефотохимического тушения и снижения активности ферредоксин-НАДФ⁺-редуктазы.

Итоговой ролью вызванных электрическими сигналами изменений фотосинтеза при распространении в интактные части растения, является повышение устойчивости фотосинтетического аппарата к действию стрессоров, что может приводить к возрастанию общей устойчивости растения к неблагоприятным факторам.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 21-74-10088.

**СОДЕРЖАНИЕ ХЛОРОФИЛЛОВ У *BRACTEACOCCLUS MINOR*
ИЗ РАЗЛИЧНЫХ БИОТОПОВ**

Chlorophyll content of *Bracteacoccus minor* isolates from various biotopes

Яковийчук А.В.^{1,2*}, Кочубей А.В.¹, Мальцева И.А.¹, Мальцев Е.И.²

¹Мелитопольский государственный университет,
Мелитополь, Россия

²Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН,
Москва, Россия

*e-mail: alex.yakov1991@gmail.com, тел. +7 990 0227325

Содержание хлорофилла у водорослей детерминировано различными факторами [1-3], начиная от возраста культуры и заканчивая параметрами культивирования и экологическими особенностями вида. При этом вариабельность содержания фотосинтетических пигментов у штаммов одного вида, изолированных из различных местообитаний, практически не изучена.

Цель работы: определить содержание хлорофилла *a* (Chl *a*), хлорофилла *b* (Chl *b*) у двух штаммов *Bracteacoccus minor* (MZ-Ch31 и MZ-Ch39), выделенных из различных биотопов.

Штамм *Bracteacoccus minor* MZ-Ch31 изолирован из почвы насаждений *Robinia pseudoacacia* L. (г. Мелитополь, Россия), MZ-Ch39 – из почвы соснового леса (Полтавская область, Украина). Штаммы поддерживаются в культуре при 15 °С при освещении 120 Лк и режиме освещения 16:8 ч (свет/темнота) на среде ВВМ. Для оценки содержания пигментов штаммы выращивали в колбах Эрленмейера с 150 мл среды ВВМ при 23°С. Интенсивность света составляла 5000 Лк, режим освещения 16:8 ч (свет/темнота). Освещение обеспечивалось белыми диодами.

У MZ-Ch31 содержание Chl *a* и Chl *b* было больше, чем у MZ-Ch39. В литературных источниках на примере *Chlorella vanniellii* показано, что соотношение Chl *a* к Chl *b* обычно составляет 1:0,33 и может изменяться в сторону как увеличения концентрации Chl *b* так и его снижения вследствие адаптации к недостаточному или интенсивному освещению [4]. Это может объяснить различия в содержании и соотношении Chl *a*/Chl *b* изолятов *Bracteacoccus minor*. В частности, для MZ-Ch31 Chl *a*/Chl *b* составляет 1:0.34, а для MZ-Ch39 – 1:0.61. Штаммы выделены из почв лесных экосистем, отличающихся световым режимом. Архитектоника кроны, отсутствие подлеска, разреженный травостой способствовали лучшей

освещенности почвенного покрова в насаждении белой акации в сравнении с сосновым с подростом и хорошо развитой лесной подстилкой.

Таким образом, содержание хлорофиллов у штаммов водорослей, изолированных из разных местообитаний, может быть детерминировано экологически.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 24-74-00132).

Литература.

1. Chukhutsina VU, Fristedt R, Morosinotto T, Croce R (2017) Photoprotection strategies of the alga *Nannochloropsis gaditana*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 1858: 544–552. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2017.05.003>
2. Ptushenko VV, Zhigalova TV, Avercheva OV, Tikhonov AN (2019) Three phases of energy-dependent induction of [Formula: see text] and Chl a fluorescence in *Tradescantia fluminensis* leaves. *Photosynthesis Research* 139: 509–522. <https://doi.org/10.1007/s11120-018-0494-z>
3. Messant M, Krieger-Liszkay A, Shimakawa G (2021) Dynamic Changes in Protein-Membrane Association for Regulating Photosynthetic Electron Transport. *Cells* 10: 1216. <https://doi.org/10.3390/cells10051216>
4. Reger BJ, Krauss RW (1970) The Photosynthetic Response to a Shift in the Chlorophyll a to Chlorophyll b Ratio of *Chlorella*. *Plant Physiology* 46: 568–575. <https://doi.org/10.1104/pp.46.4.568>

Секция 2. Фундаментальные основы фотодинамической, лазерной и PUVA терапии

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ИНАКТИВАЦИИ В ОТНОШЕНИИ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Increasing the effectiveness of photodynamic inactivation against antibiotic-resistant microorganisms

Абидуллина А.А.*, Игнатова Н.И., Елагин В.В.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет», Нижний Новгород, Россия

*e-mail: lina.abidullina@yandex.ru, тел. +7 999 1205950

Частым этиологическим фактором развития внутрибольничных инфекций являются штаммы *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*. Ввиду широкой распространенности и приобретенной множественной лекарственной устойчивости, представители этих видов нередко становятся причиной хронических инфекций и летальных исходов, что актуализирует разработку и внедрение альтернативных методов борьбы с патогенными микроорганизмами. [1].

Противомикробная фотодинамическая инаktivация (ФДИ) – это метод борьбы с микроорганизмами, заключающийся в активации лазерным излучением фотосенсибилизатора, накопленного внутри бактериальной клетки. В результате такого воздействия генерируются губительные для микроорганизмов активные формы кислорода. В ряде случаев ФДИ может быть неэффективна. Одной из причин является работа эффлюксных насосов [2,3]. Оптимизация условий проведения ФДИ с учетом активности факторов вирулентности патогенных микроорганизмов представляется актуальной целью.

Материалы и методы. Для оценки эффективности модернизированной методики штаммы *A. baumannii* и *P. aeruginosa*, отобранные методом полногеномного секвенирования по принципу наличия генов эффлюксных помп (суперсемейства RND, SMR, MATE, MFS) подвергали стандартной методике ФДИ и ФДИ с предварительной обработкой верапамилом (ВП, 300мкг/мл, 5 минут). В качестве фотосенсибилизатора использовался фотодитазин (ФС, 50 мкМ, 15 минут). Бактерии облучались диодным лазером с длиной волны 650 нм с выходной мощностью 150 мВт, в течение 10 минут. Затем суспензии

пересевали на чашки Петри для дальнейшего подсчета колониобразующих единиц (КОЕ).

Результаты. Предварительная обработка бактерий ВП в сочетании с ФДИ показали бактерицидный эффект в отношении исследуемых штаммов, тогда как стандартная методика ФДИ приводила к гибели 90% микроорганизмов.

Выводы. Ингибирование эффлюксных помп штаммов *A. baumannii* и *P. aeruginosa* повышает эффективность ФДИ. Результаты могут быть применены для разработки высокоэффективного метода борьбы с микроорганизмами, в том числе, обладающими множественной лекарственной устойчивостью. Преимуществом методики можно считать отсутствие системного действия на макроорганизм и отсутствие формирования резистентности у микроорганизмов.

Литература.

1. A. Bandy, F.A. Wani, A.H. Mohammed, U.F. Dar, A. Mallick, M.R. Dar, B.A. Tantry. Bacteriological profile of wound infections and antimicrobial resistance in selected gram-negative bacteria. Afr Health Sci. vol. 22, №4, pp. 576-586. 2022
2. A.B. Lorusso, J.A. Carrara, C.D.N. Barroso, F.F. Tuon, H. Faoro. Role of Efflux Pumps on Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Int J Mol Sci. vol. 23, №24. pp.1-21. 2022
3. N. Ignatova; T. Ivanova, A. Antonyan, I. Budruev, O. Streltsova, V. Elagin, V. Kamensky. Efficacy of Photodynamic Inactivation against the Major Human Antibiotic-Resistant Uropathogens. Photonics. vol 8. pp. 495-506. 2021

**ВЛИЯНИЕ СВОЙСТВ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА НА РАЗВИТИЕ
ФОТОИНДУЦИРОВАННОГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И ПАРАМЕТРЫ
КЛЕТОЧНОЙ СМЕРТИ**

**Influence of photosensitizer properties on the development of photo-induced
oxidative stress and cell death parameters**

Балалаева И.В.^{1}, Пескова Н.Н.¹, Турубанова В.Д.¹, Горохова А.А.¹,
Альзеибак Р., Брилкина А.А.¹, Мищенко Т.А.¹,
Ведунова М.В.¹, Крысько Д.В.²*

¹Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»
Нижний Новгород, Россия

²Гентский университет, Гент, Бельгия

*e-mail: irin-b@mail.ru, тел. +7 951 9164745

Фотодинамическая терапия зарекомендовала себя как эффективный метод лечения злокачественных опухолей различной локализации, однако в течение длительного времени она рассматривалась в основном только как индуктор окислительного стресса в облученных клетках и тканях. Взрывное развитие молекулярной онкологии привело к существенному сдвигу в представлении о молекулярных механизмах ответа опухолевой клетки на фотодинамическое воздействие. Становится очевидным, что это комплексный ответ, затрагивающий регуляцию метаболизма и работу генома клетки, передачу информации в рамках межклеточной коммуникации, а также активацию иммунной системы организма в целом. Предполагается, что механизмы ответа могут зависеть от фенотипических особенностей клеток, свойств фотосенсибилизатора и интенсивности фотодинамического воздействия.

В данной работе мы сравнили особенности развития окислительного стресса и механизмов гибели опухолевых клеток, индуцированных гидрофильными и липофильными тетрапиррольными фотосенсибилизаторами.

Мы показали, что ФДТ индуцирует массовую вторичную генерацию активных форм кислорода, а именно H_2O_2 , которая регистрируется через значительный промежуток времени после завершения облучения и обусловлена нефотохимическими процессами. В случае мембранотропных фотосенсибилизаторов накопление H_2O_2 первоначально наблюдается в митохондриях с последующим ростом его

содержания в цитоплазме. Напротив, для локализованных в лизосомах гидрофильных фотосенсибилизаторов накопление H_2O_2 в цитоплазме предшествует накоплению в митохондриях. Степень активации перекисного окисления липидов, сопровождающая облучение клеток, также зависит от локализации фотосенсибилизаторов. С использованием ряда методов подтверждено, что различные фотосенсибилизаторы могут индуцировать такие типы клеточной гибели как апоптоз, ферроптоз или некроптоз. При этом типична гибель клеток смешанного типа, но для фотосенсибилизаторов с разными физико-химическими свойствами сочетаются разные типы смерти. Показано, что изменение интенсивности фотодинамического воздействия, как правило, несущественно изменяет соотношение типов гибели. Важно отметить, что фотоиндуцированная гибель клеток сопровождается выработкой молекулярных паттернов, ассоциированных с повреждением (DAMPs), и способна привести к формированию полноценного иммунного ответа организма.

Мы полагаем, что физико-химические свойства индивидуальных фотосенсибилизаторов, определяя их внутриклеточную локализацию, обеспечивают выбор тех или иных первичных мишеней фотодинамического воздействия и, как следствие, запуск различных путей реализации стрессового ответа и активации защитных механизмов. Использование рационального подхода к выбору препарата дает инструменты для повышения эффективности терапии опухолей с генетической устойчивостью к определенным видам клеточной гибели, например, апоптозу, оптимизации схем лечения с вовлечением иммунотерапии или активации иммуногенной клеточной гибели, а также разработки методов терапевтической клеточной вакцинации.

МЕХАНИЗМЫ КЛЕТОЧНОГО ОТВЕТА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК HeLa Kyoto ПРИ КОМПЛЕКСНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ФОТОБИОМОДУЛЯЦИИ И ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ В КЛИНИЧЕСКИ РЕЛЕВАНТНЫХ ДОЗАХ

Белотелов А.Б.¹, Черкасова Е.И.¹, Масленникова А.В.^{1,2}, Юсупов В.И.³

¹ННГУ им Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

²Приволжский исследовательский медицинский университет,
Нижний Новгород, Россия

³Институт фотонных технологий ФГБУ Российской академии наук,
Троицк, Россия

e-mail: arteom.belotelow@yandex.ru

Одним из перспективных методов защиты нормальных тканей при проведении лучевой терапии является фотобиомодуляция (ФБМ, низкоинтенсивная лазерная терапия, НИЛИ), однако во время светового воздействия, направленного на защиту нормальных тканей, участки опухоли могут быть прямо подвержены воздействию низкоинтенсивного лазерного света. Поэтому крайне важна оценка возможных эффектов ФБМ в сочетании с облучением ионизирующим излучением (ИИ) на клетки опухоли.

Целью данного исследования было изучение механизмов клеточного ответа опухолевых клеток HeLa Kyoto на комбинированное воздействие ионизирующего излучения в клинически значимых дозах и низкоинтенсивного лазерного излучения красного спектра в зависимости от режимов облучения и последовательности этих воздействий. Были исследованы адаптивные (ФБМ+ИИ) и стимулирующие (ИИ+ФБМ) эффекты низкоинтенсивного лазерного света.

Воздействие на клетки низкоинтенсивном красным светом осуществлялось с помощью светодиодного лазерного источника флюенсом 0.3 Дж/см^2 при длине волны $\lambda=640 \text{ нм}$, интенсивностью 4 мВт/см^2 в течение 75 с. Облучение клеток ИИ осуществлялось на линейном линейного ускорителе Novalis Tx (энергия пучка 6 МВ, мощность дозы 6 Гр/мин). В рамках исследования были изучены сочетанные эффекты ФБМ до и после облучения ИИ в дозах 2 Гр, 4 Гр и 6 Гр на клеточный цикл, митохондриальный потенциал и клеточную смерть опухолевых клеток HeLa Kyoto.

Эксперименты проводились на проточном цитофлуориметре FacsAriaIII. Определение фаз клеточного цикла для клеток проводили при помощи набора APC BrdU Flow Kit. Для изучения изменений трансмембранного потенциала митохондрий клеток использовали

краситель MitoStatus TMRE. Анализ клеточной гибели проводили при помощи набора Annex v-PE apopt det Kit.

ФБМ без дополнительного гамма-облучения не оказал значительного влияния на клеточный цикл, состояние митохондриальной мембраны опухолевых клеток и путь клеточной смерти. Комплексное воздействие ФБМ+ИИ в некоторых случаях вызывало развитие радиационно-индуцированного митотического блока в фазе G₂/M клеточного цикла. Проведение ФБМ после облучения клеток ИИ вызвало частичное освобождение клеток из радиационно-индуцированного митотического блока в фазе G₀/G₁. Более того, в этой последовательности ИИ до ФБМ было отмечено снижение числа апоптотических клеток и клеток с деполяризованной митохондриальной мембраной по сравнению с образцами, облученными только ИИ.

Предположительно, комплексное воздействие ионизирующего излучения и фотобиомодуляции в последовательности ИИ+ФБМ оказывает стимулирующее воздействие на опухолевые клетки, в частности через регуляцию клеточного цикла, что указывает на потенциальные эффекты ФБМ в отношении репарации ДНК. Кроме того, результаты свидетельствуют о том, что ИИ+ФБМ может защищать клетки от апоптотической смерти, благоприятно влияя на окислительно-редукционное состояние митохондрий.

ФОТОИНДУЦИРОВАННАЯ ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ

1-АЛКОКСИ-2-ЙОД-ЭТИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХЛОРОФИЛЛА А

Photoinduced cytotoxicity of 1-alkoxy-2-iodine-ethyl chlorophyll a derivatives

Белых Н.Д.^{1}, Пушкарева Е.И.², Велегжанинов И.О.³, Белых Е.С.³,
Пылина Я.И.³, Белых Д.В.²*

¹ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», 603022, Нижний Новгород, Нижегородская область, Россия

²Институт химии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, 167000 Сыктывкар, Республика Коми, Россия

³Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, 167982 Сыктывкар, Республика Коми, Россия

*e-mail: uxh228000@mail.ru, тел. +7 929 2864492

Увеличение различия между концентрациями, при которых наблюдается собственный и фотоиндуцированный цитотоксический эффект потенциальных противоопухолевых фотосенсибилизаторов (ФС) может быть достигнут за счет усиления способности генерировать активные формы кислорода (АФК) при воздействии света (660 нм), например, при внедрении в молекулу атома йода. Целью настоящей работы является изучение влияния внедрения атома йода на биологические свойства фотосенсибилизаторов хлоринового типа. В настоящей работе были определены $IC_{50(темн)}$, $IC_{50(фото)}$ хлориновых ФС с атомом йода в молекуле по отношению к клеткам линии HeLa. Показано, что $IC_{50(темн)}/IC_{50(фото)}$ для йодсодержащих хлоринов в большинстве случаев больше, чем для хлоринов без атома йода. На примере 3-(1-(5-Гидрокси-3'-оксапентокси)-2-йодэтил)пирофеофорбид а метиловый эфир (**1**) и 3-(1-(Гидроксиэтокс)-2-йодэтил)хлорин еб 13-N-метил-амид-15,17-диметиловый эфир (**3**) с наибольшим, и 3-(1-Метокси-2-йодэтил)хлорин еб 13-N-метиламид-15,17-диметиловый эфир (**2**) с умеренными значениями $IC_{50(темн)}/IC_{50(фото)}$, продемонстрировано аналогичное воздействие на клетки линий A549 и HT-29. Для соединения № **1** с наибольшим $IC_{50(темн)}/IC_{50(фото)}$ (>4600) через час после облучения в клетках HeLa исследовали соотношение клеток, окрашиваемых PI и Annexin_V_FITC (AV). Оказалось, что доля неокрашенных клеток не отличается от контрольной при действии концентраций 0.05-0.15 мкМ, при увеличении концентрации вещества до 0.5 – 1.0 мкМ – доля окрашенных клеток увеличивается до 40-60 %. При этом доля клеток,

окрашенных только AV, растет с увеличением концентрации соединения, а окрашенных PI составляет в обоих случаях менее 20 %. Следует отметить, что гибель клеток развивается быстро и через 2 часа (0.5 мкМ) неокрашенными остается менее 40%, а через 4 часа – менее 30% клеток. Похожая динамика реакции клеток наблюдается в ответ на воздействие соединений 2 и 3 (0.5 мкМ). Такая динамика развития гибели клеток не позволяет оценить уровень генерации АФК: интенсивность флюоресценции DCFDA на первых этапах не отличима от контрольной, а затем резко снижается в результате гибели клеток. По данным люминесцентной микроскопии исследованные соединения **1**, **2** и **3** не проникают в ядро. Соединения **1** и **3** локализуются преимущественно в митохондриях и комплексе Гольджи практически не накапливаясь в лизосомах. Соединение **2** обнаруживается в основном в лизосомах, почти не накапливаясь в митохондриях и комплексе Гольджи. Таким образом исследованные соединения после облучения (660 нм, 12 Дж/см², 20 мин.) вызывают быструю гибель клеток путем некроза.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Молекулярная биология» Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН.

**МЕХАНИЗМЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО
ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КРАСНОЙ ОБЛАСТИ СПЕКТРА**

**Mechanisms of biological action of low-intensity laser radiation in the red region
of the spectrum**

Бриль Г.Е.

Саратовский государственный медицинский университет
им. В.И. Разумовского, Саратов, Россия

e-mail: gbrill@yandex.ru, тел. +7 904 2446466

Низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ) в настоящее время находит широкое применение в различных областях медицины. Однако механизмы, лежащие в основе влияния НИЛИ на живую систему, во многом остаются неясными. Не вызывает сомнения положение классической фотобиологии гласящее, что для проявления биологического эффекта квант света должен быть поглощён какой-то молекулой. В рамках данной парадигмы были проведены многочисленные исследования с облучением тканей гелий-неоновым лазером, позволившие выделить в биоткани акцепторные молекулы, избирательно поглощающие длину волны 632,8 нм. Такими молекулами оказались порфирины, входящие в состав гемоглобина и образующие простетические группы ряда ферментов (цитохромоксидаза, каталаза, гуанилатциклаза), а также металлы с переменной валентностью (медь, марганец), входящие в состав СОД и церулоплазмينا. Кроме того, ряд отечественных исследователей обратили внимание, что длина волны He-Ne лазера совпадает с зоной резонансного поглощения молекулярного кислорода и при его наличии в системе лазерное облучение способно вызвать образование синглетного кислорода, приводящего к изменению свойств среды (светокислородный эффект).

Однако подобным резонансным поглощением не могли быть объяснены многообразные биологические эффекты НИЛИ. В частности, оказалось, что НИЛИ может изменять свойства систем, заведомо не содержащих классических фотоакцепторных молекул. Так, нами показано, что под влиянием излучения низкоинтенсивного красного лазера ($\lambda = 660$ нм) изменяются структурообразовательные свойства находящихся в водной среде молекул бактериального липополисахарида (ЛПС), а также очищенных гистонов человека (Н1, Н2А, Н2В, Н3.2, Н4). Светокислородный эффект при данной длине волны не реализуется. Встает вопрос: почему при воздействии НИЛИ изменяются свойства

указанных биомолекул? Для ответа на данный вопрос, нами были проведены исследования совместно с сотрудниками Саратовского филиала Московского института радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН. В работе использовался метод резонансно-трансмиссионной КВЧ/СВЧ радиоспектроскопии. Данный метод обладает исключительно высокой чувствительностью ($\sim 10^{-16}$ Вт) и позволяет верифицировать базовые молекулярные элементы структуры воды. Принцип метода заключается в следующем. Исследуемая проба бидистиллированной воды помещается в кювету, дно которой является антенной ДМ-радиометра. Далее проводится облучение пробы с помощью КВЧ-генератора (сви́пирование частоты) и регистрируется резонансный отклик в дециметровом диапазоне (контрольная проба). Затем проба воды подвергается облучению He-Ne лазером и повторяется сви́пирование (опытная проба).

Проведенные исследования показали, что при воздействии низкоинтенсивного красного лазера происходит изменение резонансных характеристик бидистиллированной воды. При этом в водной среде происходит генерация вторичных КВЧ- и СВЧ-излучений. Эта резонансно-волновая диффузия может служить важным механизмом изменения структуры водного матрикса, приводящим к изменению метаболизма и функции клеток, подвергшихся лазерному воздействию.

**УГЛЕРОДНЫЕ НАНОТОЧКИ ГИДРОТЕРМАЛЬНОГО СИНТЕЗА КАК
ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ ДОСТАВКИ
ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ**

**Carbon nanodots synthesized by hydrothermal method as potential platforms for
delivery of photosensitizers**

*Гвоздев Д.А. *, Нестерова В.В., Гудкова В.Р., Цораев Г.В.*

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

**e-mail: danil131054@mail.ru, тел. +7 985 3079421*

В настоящее время наночастицы часто рассматриваются как компоненты высокоэффективных лекарственных систем, где они могут применяться в том числе как платформы для переноса и направленной доставки лекарств. Ключевым параметром отбора наночастиц для биомедицинских целей является отсутствие общей и специфической цитотоксичности, коллоидная устойчивость в биологических средах. В последние годы открыто множество новых типов углеродных наночастиц, в частности, углеродные наноточки (УНТ), которые представляют собой фазу аморфного углерода с различными функциональными группами на поверхности частицы и демонстрируют значительную биосовместимость по сравнению с фуллеренами и нанотрубками.

Задачей данного исследования было получить УНТ методом гидротермального синтеза из различных углеродных предшественников и оценить цитотоксичность таких УНТ, их коллоидную стабильность, способность УНТ взаимодействовать с фотосенсибилизаторами и белками плазмы крови.

В качестве углеродных предшественников использовали водные растворы сахара/глицин; сахара/глицин/аланин; сахара/цитрат натрия в эквимольном соотношении. Синтез осуществляли в автоклавируемом реакторе при 200°C в течение 1 ч с дальнейшей очисткой диализом. Для характеристики свойств УНТ использовали методы динамического светорассеяния, электронной микроскопии, ИК-спектроскопии, флуориметрии. Способность УНТ связывать фотосенсибилизаторы исследовали на примере поликатионных металлокомплексов фталоцианинов. Для исследования цитотоксичности УНТ проводили тест МТТ на культурах НЕК, HeLa и Arpe19. Проникновение и локализацию УНТ в клетках изучали методом флуоресцентной конфокальной микроскопии.

Полученные уНТ имели диаметр 2-10 нм, сохраняли коллоидную стабильность в растворе ПБС в течение по крайней мере 6 месяцев за счет наличия большого количества полярных (гидроксильных, карбонильных, карбоксильных и др.) групп на поверхности частиц. уНТ оказались способны к флуоресценции в синей (~460 нм) и зеленой (~550 нм) области спектра, что позволяет использовать их для флуоресцентной диагностики.

Синтезированные углеродные наноточки несут отрицательный заряд на поверхности (ζ -потенциал -40 – -25 мВ) и образуют конъюгаты с поликатионными фталоцианинами цинка за счет электростатических взаимодействий. Конъюгат остается стабильным в присутствии человеческого сывороточного альбумина.

Исследование методом конфокальной микроскопии показало, что уНТ проникают в клетки НЕК, HeLa и Atp19 путем эндоцитоза и локализуются в лизосомах; уНТ продемонстрировали отсутствие цитотоксичности в концентрациях до 0.3 мг/мл.

Таким образом, можно заключить, что полученные уНТ обладают перспективой использования в фотодинамической терапии.

**РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В КЛЕТКАХ-СВИДЕТЕЛЯХ
ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ**

The development of oxidative stress in bystander cells during photodynamic exposure

*Горохова А.А. *, Бугрова Ю.С., Пескова Н.Н., Балалаева И.В.*

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

**e-mail: gorokhova_a@unn.ru, тел. +7 987 754 63 11*

Механизм действия фотодинамической терапии (ФДТ) базируется на образовании активных форм кислорода (АФК), которые оказывают деструктивное действие на опухолевые клетки и сосудистую сеть. Ранее в наших экспериментах было показано, что фотодинамическое воздействие на культуру клеток *in vitro* способно индуцировать вторичное образование АФК, а именно пероксида водорода, которое регистрируется спустя долгое время после завершения облучения [1]. Важным феноменом при ФДТ, показанным в последние годы, является эффект свидетеля (ЭС), который заключается в индукции некоего ответа у клеток за пределами области воздействия.

Цель данной работы – анализ развития окислительного стресса в клетках-свидетелях при фотодинамическом воздействии. Исследования проводились на клеточной линии эпидермоидной карциномы человека A431-HuPer-cyto, трансфицированной генетически-кодированным сенсором HuPer. Данный сенсор участвует в обратимой реакции и специфичен к H_2O_2 , что позволяет исследовать динамику содержания пероксида в клетках в течение времени. В работе использовали ратиометрический подход – определяли отношение интенсивности флуоресценции окисленной и восстановленной форм HuPer при их последовательном возбуждении на 405 и 488 нм. В качестве фотосенсибилизатора использовали клинически одобренный препарат фталоцианинового ряда, фотосенс (ФГУП ГНЦ «НИОПИК»). Регистрацию сигнала HuPer осуществляли методом конфокальной микроскопии. Фотодинамическую реакцию запускали путём воздействия на единичную клетку через объектив микроскопа светом с длиной волны 633 нм в диапазоне доз от 50 до 150 Дж/см². Показано, что локальное фотодинамическое воздействие с фотосенсом индуцирует развитие окислительного стресса (накопление пероксида водорода) как в целевой, так и в соседних, необлученных клетках, что можно рассматривать как инициацию эффекта свидетеля.

Показано, что интенсивность ответа клеток-свидетелей убывает с увеличением расстояния до облученной клетки. Увеличение дозы света приводит к ускорению ответа облученной клетки, однако в отношении клеток-свидетелей такой зависимости не зарегистрировано. ЭС наиболее выражен в случае непосредственного контакта облученной клетки с необлученными. Этот факт согласуется с гипотезой о вовлеченности межклеточных щелевых контактов в реализацию исследуемого эффекта. В то же время, при внесении в среду каталазы ответ регистрировали только у облученной клетки. Данные факты согласуются с литературными данными о роли пероксида водорода как потенциального инициатора некоторых сигнальных каскадов при ФТД. В связи с этим можно предположить, что H_2O_2 способен диффундировать в клетки-свидетели и инициировать в них развитие окислительного повреждения.

Литература.

1. Peskova N.N., Brilkina A.A., Gorokhova A.A. et al. The localization of the photosensitizer determines the dynamics of the secondary production of hydrogen peroxide in cell cytoplasm and mitochondria. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2021. 219: 112208.

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ КАК ОДНО ИЗ НАПРАВЛЕНИЙ ФОТОФАРМАКОЛОГИИ

Грин М.А.

МИРЭА-Российский технологический университет, Москва, Россия

Фотофармакология – это особый раздел в медицинской науке, который работает над изобретением «умных лекарств». Цель ученых-фотофармакологов – создание лекарства, которое бы «включалось» и «выключалось» под воздействием света.

Фотодинамическая терапия использует фотосенсибилизаторы различной природы, которые имеют два важных свойства – туморотропность, то есть селективное накопление в опухоли и нетоксичность, т.к. «включается» ФС только при воздействии света определенной длины волны. Другая группа соединений, которые разрабатываются нашей научной группой – азобензолы, для которых под действием света можно управлять местноанестетической, антиаритмической и бактерицидной активностью. Еще одно направление фотофармакологии связано с созданием пролекарств, которые попадая в организм в неактивном состоянии активируются под действием света, что определяется наличием в их структуре светорасщепляемых линкеров. Например, создан конъюгат хлорина и антрациклинового противоопухолевого антибиотика, соединенные светорасщепляемым линкером, при облучении которого включаются противоопухолевая и химиотерапевтическая активности.

Существует потребность в стоматологии в светуправляемой анестезии и одновременном антимикробном действии, поскольку воспаленные ткани пародонта, как правило, инфицированы. Нами получен конъюгат, который представляет прототип препарата двойного действия, состоящий из азабензола и хлорина, у которого под действием света реализуется как анестетическое, так и антибактериальное действие. Таким образом фотоуправляемые лекарства имеют большую перспективу использования в клинической практике.

РАЗРАБОТКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ДЛЯ ЗАДАЧ УРОЛОГИИ

Development of Antibacterial Photodynamic Therapy for Urology

Елагин В.В.^{1*}, Игнатова Н.И.¹, Антонян А.Э.¹, Буреев П.А.²,
Стрельцова О.С.¹, Каменский В.А.³

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород, Россия

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия

³Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики им. А.В. Гапонова-Грехова Российской академии наук», Нижний Новгород, Россия

*e-mail: elagin.vadim@gmail.com, тел. +7 902 3000809

Широкое распространение патогенных микроорганизмов, имеющих множественную лекарственную устойчивость, стимулирует поиск новых способов борьбы с ними. Одним из перспективных методов лечения локализованных бактериальных инфекций является фотодинамическая терапия. Целью данного исследования являлась разработка методики антибактериальной фотодинамической терапии (аФДТ) для эффективной элиминации уропатогенных микроорганизмов.

Микроорганизмы выделяли из образцов мочи пациентов с инфекционными заболеваниями мочевыделительной системы. В ходе *in vitro* исследований были подобраны оптимальная концентрация фотосенсибилизатора и параметры облучения. Безопасность разработанной методики исследована *in vivo* на почка лабораторных животных. Эффективность аФДТ оценивали на пациентах, страдающих хроническим циститом инфекционного генеза. В качестве фотосенсибилизаторов использовали Фотодитазин и метиленовый синий.

Анализ интенсивности флуоресценции суспензий микроорганизмов позволил установить, что взаимодействие фотосенсибилизатора с бактериальными клетками зависело от времени инкубации и

концентрации. При этом Фотодитазин взаимодействовал с грамотрицательными штаммами лучше, чем с грамположительными. Наибольшее накопление фотосенсибилизатора штаммами *E. coli* и *P. mirabilis* наблюдалось через 30 мин. Для штаммов *E. faecalis* и *S. aureus* максимум накопления отмечен через 60 мин. При проведении аФДТ *in vitro* было установлено, что воздействие естественного освещения на штаммы *E. faecalis* и *S. aureus*, содержащие фотосенсибилизатор, приводит к их гибели. Для грамотрицательных штаммов количество жизнеспособных клеток составило 10% при облучении лазером с выходной мощностью 150 мВт. С целью повышения эффективности аФДТ к бактериальным клеткам вместе с фотосенсибилизатором добавляли Твин 80 или Тритоном X-100. Так в случае Тритона эффективность повышалась на 50%, а для Твина – на 9%. Кроме того, было обнаружено, что удаление из внеклеточной среды фотосенсибилизатора приводит к значительному снижению эффективности аФДТ. При увеличении мощности лазерного излучения эффективность аФДТ увеличивалась и достигала 99,99% при 450 мВт. Для проверки эффективности разработанной методики аФДТ образцы мочи пациентов инкубировали с фотосенсибилизатором и Тритоном X-100 в течение 15 минут в темноте. Затем, не удаляя фотосенсибилизатор, облучали лазером с выходной мощностью 450 мВт. Эффективность аФДТ составила не менее 99,996%.

Для проверки безопасности разработанных режимов аФДТ раствор, содержащий 5 мг/мл Фотодитазина и 10% Тритона X-100, вливали в лоханку почки животным и выдерживали 15 мин. Облучение светом проводили световодом с диффузным рассеивателем через катетер. На гистологических препаратах были обнаружены участки деструкции верхних слоев эпителия и выраженного разрыхления клеток. Выявленные изменения носили обратимый характер, что свидетельствует о безопасности методики. Далее было проведено лечение 20 пациентам с хроническим циститом, по результатам которого отмечено значительное снижение концентрации микроорганизмов в моче, сохраняющееся на протяжении 3 месяцев. При этом у всех пациентов значительно снижались выраженность симптомов цистита и уровень общего дискомфорта уже после проведения первой процедуры.

**МЕЗО-ЗАМЕЩЕННЫЕ КАТИОННЫЕ ПИРИДИЛПОРФИРИНЫ ДЛЯ
ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ГНОЙНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

**Meso-substituted cationic pyridylporphyrins for photodynamic therapy
of purulent diseases**

Корченова М.В. , Тучина Е.С.*

Саратовский национальный исследовательский государственный
университет имени Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

**e-mail: masha.korchenova@mail.ru, тел. +7 903 0236655*

В настоящее время как никогда остро стоит проблема появления новых устойчивых к антибиотикам штаммов бактерий [1,2]. Метициллин-резистентный *Staphylococcus aureus* является одним из наиболее важных патогенов, вызывающих тяжелые внутрибольничные инфекции и гнойно-септические заболевания [3]. В современной медицине антимикробное фотодинамическое действие является альтернативным способом борьбы с заболеваниями, вызываемыми как чувствительными, так и резистентными к антибиотикам бактериями [1-3]. В связи с этим, целью данного исследования стало изучение новых порфириновых соединений как перспективных фотосенсибилизаторов при антимикробном фотодинамическом воздействии на стафилококки.

Формирование моделированного гнойного абсцесса (МГА) проводили методике, описанной ранее [4], в качестве инфектанта использовали клинический антибиотико-чувствительный штамм *Staphylococcus aureus*. 15 крыс породы «Стандарт», возрастом 8 месяцев, массой 200 ± 50 г, были разделены на 5 экспериментальных групп: 1) контроль – МГА со стандартным лечением; 2) МГА с обработкой облучением; 3) МГА с обработкой ПФ; 4) МГА с обработкой ПФ и облучением. Для оценки изменений в размерах и структуре МГА использовались УЗИ изображения, полученные на 0 и 5 день лечения с помощью УЗ аппарата DUB SkinScanner (Tpm Taberna pro Medicum, Германия) в режиме В-скана с помощью зонда (частота 22 МГц), глубина зондирования – 30 мм. Источником излучения служил светодиод с максимумом спектра испускания $\lambda = 428$ нм и плотностью мощности 70 мВт/см^2 . Во всех экспериментах режим излучения был непрерывный. Время облучения составляло 15 мин в сутки в течение 10 дней.

Для оценки эффективности воздействия ежедневно проводили высев инфильтрата из МГА на чашки Петри с ГРМ-агаром с последующим подсчетом численности микроорганизмов ($\log_{10}\text{KOE}$). Установлено, что

использование синего (428 нм) светодиодного излучения для чрескожной обработки МГУ снижает обсемененность инфильтрата на 1 $\log_{10}$ КОЕ после первого сеанса облучения, на 5 $\log_{10}$ КОЕ после 5 сеанса и на 7 $\log_{10}$ КОЕ после 10 дней лечения. При анализе УЗИ-изображений выявлено существенное сокращение объема МГА на уже на 5 день для группы 4. Лучшие показатели – скорость снижения бактериальной нагрузки, редукция абсцесса, восстановление нормальных значений показателей крови – отмечены на 10 день для 4 группы животных. У группы 2 все показатели достигали нормы к 15 дню, в то время как для групп 1 и 3 восстановление произошло на 18 сутки.

Литература.

1. Youf R., Müller M., Balasini A., Thétiot F., Müller M., Hascoët A., Jonas U., Schönherr H., Lemerrier G., Montier T. Antimicrobial Photodynamic Therapy: Latest Developments with a Focus on Combinatory Strategies // *Pharmaceutics*. 2021. Vol. 13. Iss. 12. P. 1995.
2. Feng Y., Tonon C. C., Ashraf S., Hasan T. Photodynamic and Antibiotic Therapy in Combination against Bacterial Infections: Efficacy, Determinants, Mechanisms, and Future Perspectives // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2021. Vol. 177. P. 113941.
3. Hamblin M.R. Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes // *Curr. Opin. Microbiol.* 2016. Vol. 33. P. 67-73.
4. Патент РФ №2601378 «Способ моделирования абсцессов мягких тканей» / Алипов В.В., Урсова А.И., Андреев Д.А. и др., опубл. 10.11.2016.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОНЬЮГАТА ДВОЙНОГО ДЕЙСТВИЯ
ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**
**study of the effectiveness of a double-acting conjugate for photodynamic therapy
of oncological diseases**

*Крылова Л.В.**, *Отвагин В.Ф.*, *Кузьмина Н.С.*, *Нючев А.В.*,
Федоров А.Ю., *Балалаева И.В.*

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»
(ННГУ), Нижний Новгород, Россия

**e-mail: lu.krylova@mail.ru, тел. +7 908 1618027*

Многообещающей стратегией повышения противоопухолевой эффективности фотодинамической терапии (ФДТ) является создание фотосенсибилизаторов (ФС) двойного действия. Данная концепция основана на объединении ФС с другими терапевтическими агентами, в частности, с низкомолекулярными ингибиторами для таргетной терапии, с целью повышения терапевтического эффекта и преодоление множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток [1,2].

Целью данной работы явилась оценка эффективности конъюгата двойного действия для фотодинамической терапии онкологических заболеваний.

Исследуемое соединение представляет собой цинковый комплекс хлорина *еб* с вандетанибом. Хлорин *еб* под действием света запускает фотодинамическую реакцию в клетке. Вандетаниб представляет собой ингибитор тирозинкиназной активности рецепторов эпидермального фактора роста (EGFR) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR), гиперэкспрессируемых на опухолевых клетках.

В ходе работы были исследованы фотофизические свойства исследуемого конъюгата. Эксперименты *in vitro* проводили на культурах клеток эпидермоидной карциномы человека А-431, обладающих повышенной экспрессией EGFR. Исследования *in vivo* проводили на иммунодефицитных мышах с подкожно привитой эпидермальной карциномой кожи человека (А431). Избирательность накопления анализировали методом флуоресцентной визуализации на уровне целого организма. ФДТ проводили через 4 часа после внутривенного введения в дозе 50 Дж/см². Терапевтический эффект оценивали по динамике объема опухолевых узлов.

Исследуемый в работе конъюгат продемонстрировал интенсивное поглощение и флуоресценцию в длинноволновой области спектра. Квантовый выход флуоресценции не превышал 10%. Показано интенсивное накопление исследуемого соединения в клетках A431 с локализацией в лизосомах и других везикулах. Также показано выраженное фотоиндуцированное действие конъюгата в субмикромольных концентрациях. В экспериментах *in vivo* продемонстрирована селективность накопления соединения в опухоли. Также отмечена способность конъюгата ингибировать рост опухоли как при проведении ФДТ, так и без него, что может свидетельствовать о реализации сочетанного эффекта ФДТ и вандетаниба.

Результаты проведенных исследований указывают на высокий противоопухолевый потенциал конъюгата на основе хлорина *e6* с вандетанибом, и позволяют рассматривать его в качестве потенциального агента для ФДТ с комбинированным действием.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 24-13-00179).

Литература.

1. Mfouo-Tynga I.S., Dias L.D., Inada N.M., Kurachi C. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2021, 34, 102091.
2. Otvagin V.F., Kuzmina N.S., Krylova L.V. et.al. European Journal of Medicinal Chemistry, 2019, 62(24), 11182–11193.

**ФОТОРАСЩЕПЛЯЕМЫЕ КОНЬЮГАТЫ НА ОСНОВЕ
ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА BODIPY И НЕКОТОРЫХ ЦИТОСТАТИКОВ ДЛЯ
ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ**

**Photocleavable conjugates based on the BODIPY photosensitizer and some
cytostatics for antitumor therapy**

Кузьмина Н.С., Федотова Е.А., Крылова Л.В.,
Отвагин В.Ф., Федоров А.Ю.*

Национальный исследовательский Нижегородский государственный
университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

**e-mail: kuzmina.ns2014@gmail.com, тел. +7 910 3926895*

Одни из основных недостатков противоопухолевой терапии – лекарственная устойчивость и системная токсичность применяемых препаратов. Для решения указанных проблем в данной работе предложен пролекарственный конъюгированный агент **1** на основе фотосенсибилизатора BODIPY (4,4-дифтор-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена) и некоторых цитостатиков. В качестве агентов химиотерапии использованы: алкилирующий ДНК аналог дуокармицина (seco-CBI **2**) и ингибитор различных рецепторных тирозинкиназ кабозантиниб **4** (рис. 1). Высвобождение активной формы цитостатика будет происходить под действием света зеленой (510 нм) или красной (640 нм) области видимого спектра за счет разрыва связи в мезо-метильном положении конъюгата **1** фотосенсибилизатора BODIPY [1]. В результате последующей циклизации Винштейна seco-CBI **2** активность образующегося цитостатика CBI **3** увеличивается до 100000 раз [2]. Сочетание в составе фоторасщепляемого конъюгата **1** фотосенсибилизатора и цитостатика позволит реализовать одновременно и фотодинамическую терапию, и химиотерапию.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект 24-13-00179.

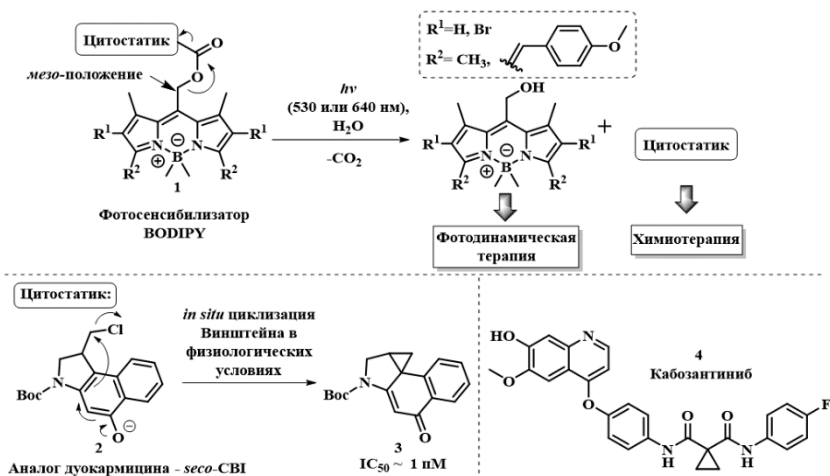


Рис. 1. Фоторасщепляемый конъюгат 1 и цитостатики, использованные в работе. В работе исследован процесс фоторасщепления, получены фотофизические характеристики конъюгата 1.

Литература.

- 1.Slanina, T. Shrestha, P. Chem. Soc. J. 2017, 139, 15168-15175.
- 2.Boger, D.L. J. Am. Chem. Soc., 1997, 119, 4977-4986.

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ
ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛЕТОК АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА В
УСЛОВИЯХ ОБЛУЧЕНИЯ КРАСНЫМ СВЕТОМ В ПРИСУТСТВИИ
МЕТИЛЕНОВОГО ГОЛУБОГО**

**Structural-functional and physico-chemical characteristics of Ehrlich ascites
tumor cells under conditions of red light irradiation in the presence
of methylene blue**

*Лысенко Ю.А. *, Артюхов В.Г.*

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Воронежский государственный университет»,
Воронеж, Россия

**e-mail: lysenko@bio.vsu.ru, тел. +7 473 2208308*

Краситель тиазинового ряда — метиленовый голубой (МГ) — рассматривается в качестве эффективного фотосенсибилизатора в рамках фотодинамической терапии заболеваний опухолевого и иного генеза [1]. В связи с этим на кафедре биофизики и биотехнологии ВГУ проводятся комплексные исследования изменений физико-химических и структурно-функциональных характеристик клеток асцитной карциномы Эрлиха (опухолевая модель с хорошо исследованными характеристиками [2]) и их основных компонентов в условиях облучения красным светом (устройство «УЛОКС»: 665 ± 15 нм; 5 мВт/см²; облучение в диапазоне доз $0,3—18,0$ Дж/см²) в присутствии МГ различных концентраций ($10^{-6}—10^{-4}$ моль/л; выщелачивание концентрации сенсибилизатора позволяет изменять степень ассоциации его молекул и, как следствие, фотофизические и фотохимические характеристики сенсибилизатора).

С использованием методов флуоресцентной спектроскопии и проточной цитофлуориметрии исследованы изменения уровней: активных форм кислорода, свободного цитоплазматического Ca^{2+} , мембранного потенциала митохондрий (в присутствии азиды натрия (является тушителем синглетного кислорода, ингибитором комплексов IV и V электронтранспортной цепи митохондрий) и ротенона (ингибитор комплекса I дыхательной цепи митохондрий)) клеток АКЭ в условиях фотодинамического воздействия.

Методами атомно-силовой микроскопии, динамического светорассеяния, электрофореза, спектроскопии в УФ- и видимой области исследованы трансформации характеристик препаратов ядерной ДНК

(выделенной из клеток АКЭ) в условиях темновой инкубации и облучения в присутствии МГ.

В результате применения методов растровой электронной и световой микроскопии продемонстрированы модификации ядерной морфологии, поверхности клеток АКЭ, а также их популяционного состава после фотодинамического воздействия.

Обнаружены изменения: концентрации клеток АКЭ в суспензии и степени целостности их мембран; каталитической активности цитоплазматических ферментов — лактатдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы — при темновой инкубации и облучении в смеси с красителем.

Выявленные закономерности и особенности реакции клеток АКЭ на экзогенное воздействие могут быть использованы при обсуждении вопросов разработки и оптимизации фототерапевтических методик.

Литература.

1. Taldaev A, Terekhov R, Nikitin I, Melnik E, Kuzina V, Klochko M, Reshetov I, Shiryayev A, Loschenov V, Ramenskaya G. Methylene blue in anticancer photodynamic therapy: systematic review of preclinical studies. *Front Pharmacol.* 2023 Sep 28; 14:1264961. doi: 10.3389/fphar.2023.1264961.
2. Radulski DR, Stipp MC, Galindo CM, Acco A. Features and applications of Ehrlich tumor model in cancer studies: a literature review. *Transl Breast Cancer Res.* 2023 Jul 30; 4:22. doi: 10.21037/tbcr-23-32.

**ФОТОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ И ГЕМОГЛОБИНА КРОВИ
МЫШЕЙ И ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ОБЛУЧЕНИЯ КРАСНЫМ СВЕТОМ В
ПРИСУТСТВИИ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА — МЕТИЛЕНОВОГО ГОЛУБОГО**

**Photosensitivity of erythrocytes and hemoglobin from the blood of mice and
humans under irradiation with red light in the presence of photosensitizer —
methylene blue**

Лысенко Ю.А., Шигапова Л.А., Азаренкова И.К., Артюхов В.Г.*

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Воронежский государственный университет»,
Воронеж, Россия

**e-mail: luda.shigapova92@mail.ru, тел. +7 473 2208308*

Одним из путей доставки сенсibilизаторов в организм в рамках фотодинамической терапии является внутривенное введение, таким образом, необходимо принимать во внимание темновые и фотоиндуцированные взаимодействия этих веществ с отдельными составляющими крови. Кроме того, повреждение сосудистых компонентов опухоли, инициируемое процессом фотодинамического воздействия, относят к факторам, способствующим ее резорбции [1]. Основной клеточный пул крови представлен эритроцитами, рассматриваемыми в настоящее время также в контексте светоопосредованной тераностики (терапевтические эффекты в сочетании с диагностическими), в рамках которой эти клетки используются в качестве носителей фотосенсибилизаторов-флуорофоров [2].

В связи с этим нами исследованы изменения ряда физико-химических и структурно-функциональных характеристик эритроцитов крови мышей (аутбредный сток NMRI) и человека в условиях облучения красным светом (665 ± 15 нм; 5 мВт/см²) в присутствии метиленового голубого (МГ) различных концентраций. Установлено, что облучение суспензии эритроцитов крови мышей в диапазоне доз 4,5—18,0 Дж/см², их темновая инкубация с метиленовым голубым (10–4 моль/л) и фотомодификация в присутствии красителя способствуют частичному лизису клеток: наибольшие показатели гемолиза регистрируются в условиях фотосенсибилизированного окисления. При инкубации образцов без доступа света в присутствии МГ и облучении в смеси с красителем выявлены изменения спектров поглощения гемоглобина, характерные для перехода части его молекул в окисленную форму (метгемоглобин). Эти трансформации были сопряжены с понижением каталитической

активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и цитохром b₅-редуктазы (метгемоглобинредуктазы).

Методами растровой электронной и оптической микроскопии показано, что в ходе фотомодификации суспензии эритроцитов наблюдается появление эхиноцитов и агрегатов клеток. Определены абсорбционные и фотофлуоресцентные характеристики МГ в свободной форме и в сорбированном на мембране эритроцитов состоянии. Продемонстрировано, что фотомодификация растворов гемоглобина в присутствии МГ способствует изменению электрофоретических характеристик гембелка, в частности, уширению фракций и повышению значений электрофоретической подвижности по мере роста дозы облучения.

По результатам проведенных экспериментов можно сделать вывод о бóльшей чувствительности эритроцитов крови мышей к фотосенсибилизированному окислению по сравнению с эритроцитами человека.

Литература.

1. Nogueira L, Tracey AT, Alvim R, Reisz P, Scherz A, Coleman JA, Kim K. Developments in Vascular-Targeted Photodynamic Therapy for Urologic Malignancies. *Molecules*. 2020; 25 (22): 5417. doi: 10.3390/molecules25225417.
2. Hanley T, Vankayala R, Lee CH, Tang JC, Burns JM, Anvari B. Phototheranostics Using Erythrocyte-Based Particles. *Biomolecules*. 2021; 11 (5): 729. doi: 10.3390/biom11050729.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПОРФИРИНА С ОСТАТКОМ ГУАНИНА С НУКЛЕИНОВЫМИ КИСЛОТАМИ В ТЕМНОВОЙ ФАЗЕ И ФОТООБЛУЧЕНИИ

Research of the interaction of porphyrin with guanine residue with nucleic acids in the dark phase and photo emission

Мамаева К.И. , Юрина Е.С., Лебедева Н.Ш., Сырбу С.А.*

Институт химии растворов им. Г.А. Крестова Российской академии наук,
Иваново, Россия

*e-mail: ksyu.mamaeva2000@yandex.ru, тел. +7 493 2336272

Порфирины являются перспективными фотосенсибилизаторами, обладающими уникальными физико-химическими свойствами, среди которых способность генерации АФК, фотостабильность, низкая темновая токсичность [1]. Применение методов C–H функционализации открывает практически неограниченные возможности к модификации порфиринового соединения [2]. Введение периферийных заместителей позволяет осуществлять тонкую настройку фотохимических и комплексобразующих свойств порфиринов. В данной работе была осуществлена целенаправленная модификация и синтезирован порфирин, содержащий 3 катионных группы и остаток гуанина (porG). Строение порфирина было подтверждено методами ЯМР-спектроскопии MALDI-TOF. Целью настоящего исследования являлось изучение взаимодействия синтезированного порфирина с нуклеиновыми кислотами и оценка влияния фотооблучения светом длиной волны 425 нм на образующиеся комплексы. В качестве объектов исследования были выбраны репрезентативные короткоцепочечные олигонуклеотиды poly[d(AT)2], poly[d(GC)2] и ctДНК. В результате проведенного спектрального исследования было установлено, что porG специфически взаимодействует со всеми нуклеиновыми кислотами, образуя с poly[d(AT)2] внешний комплекс, который не подвергается фотодеструкции при фотооблучении. С poly[d(GC)2] и ctДНК синтезированный порфирин образует интеркаляционные комплексы, при этом в условиях фотооблучения фиксируется деструкция нуклеиновой кислоты.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ 23-13-00235.

Литература.

1. Boscencu R., Radulea N. et al. (2023). Porphyrin Macrocycles: General Properties and Theranostic Potential. *Molecules*, 28(3), 1149.
2. Киселев А.Н., Сырбу С.А., Лебедева Н.С., Губарев Ю.А. (2022). Функционализация порфиринов с использованием катализируемой металлами активации C–H. *Неорганика*, 10 (5), 63.

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ЛИПОСОМАЛЬНОГО
ПЛАСТОХИНОНА И УБИХИНОНА НА ФОРМУ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ
ТЕРМИЧЕСКОМ ОЖОГЕ II-IIIА СТЕПЕНИ**

**Comparative analysis of the liposomal plastoquinone and ubiquinone effect on
erythrocyte shape in thermal burns II-IIIa degree**

Осочук С.С.¹, Борисова-Мубаракшина М.М.², Пашкевич Н.И.^{1},
Вильянен Д.В.², Ветошкина Д.В.², Пыхова Е.С.²*

¹Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, Витебск, Республика Беларусь

²Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пушино, Россия

**e-mail: orekhova.ni93@gmail.com , тел. +375 29 2972200*

Ожоги представляют значительную социально-экономическую проблему в современном обществе. Ожог кожи площадью 10-20% и более характеризуется высокой частотой возникновения осложнений и полиорганной недостаточности. Одним из ведущих звеньев патогенеза при ожогах является активация свободно-радикального окисления, приводящая к повреждению мембран эритроцитов и дефициту эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот, поэтому целесообразным является разработка новых лекарственных средств для терапии ожогов на основе эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот с высокой антиоксидантной активностью. Пластохинон (ПХ) и убихинон (УХ) являются одними из самых мощных антиоксидантов, причем пластохинон более, чем убихинон, активен в качестве антиоксиданта (Борисова-Мубаракшина М.М. и др., 2018), и ранее не применялся при лечении ожогов кожи, поэтому целью нашего исследования было изучение влияния пластохинона и убихинона, включенных в состав липосом, на форму эритроцитов лабораторных крыс при термических ожогах кожи II-IIIa степени.

Липосомы готовили из 90% фосфатидилхолина (PanReacAppliChem (Испания, Германия)) и холестерина (Sigma, США), в соотношении 5:1 с последующим добавлением пластохинона и убихинона. Эксперименты проведены на 162 неимбредных крысах-самцах, разделенных на 8 групп: 1 – интактные, 2 – стресс-контроль, 3 – термический ожог 30%, 4 – ожог + липосомы, 5 – ожог + накожные липосомы с ПХ 50мкм, 6 – ожог + липосомы с ПХ 5мкм в/в, 7 – ожог + накожные липосомы с УХ 50мкм и 8 – ожог + липосомы с УХ 5мкм в/в. Для моделирования ожогов животных

наркотизировали кетаминном, выбривали шерсть на спинке и к коже на 4 минуты прикладывали пластину прибора (20-30% от площади поверхности тела), разогретую до 150°C, что морфологически соответствует ожогу II-IIIА степени. Прибор для моделирования термических ожогов изготовлен ОАО КБ «Дисплей» (Витебск, Республика Беларусь). Крысам 4, 5 и 7 групп на область ожога наносили липосомы без и с ПХ и УХ, а крысам 6 и 8 групп вводили липосомы без и с ПХ и УХ в/в. Форму эритроцитов оценивали в камере Горяева на микроскопе Leica DM 2000 (Германия). Статистический анализ данных выполняли в пакете прикладных программ R version 4.0.5.

Анализ данных показал, что термический ожог приводит к увеличению количества эритроцитов с измененной формой, а также появлению феномена сладжа эритроцитов. Липосомы без добавления в их состав ПХ и УХ уменьшают количество эритроцитов с измененной формой, однако сладж-феномен сохраняется. Липосомы с ПХ, нанесенные на кожу, предотвращают изменение формы эритроцитов у лабораторных животных, а введенные внутривенно липосомы с ПХ, помимо этого, полностью устраняют эритроцитарный сладж. Накожное нанесение и внутривенное введение липосом с УХ также приводит к исчезновению эритроцитов с измененной формой, однако не влияют на сладж эритроцитов. Таким образом, липосомы с ПХ и УХ, нанесенные на кожу и введенные внутривенно, в одинаковой степени предотвращают изменение формы эритроцитов у лабораторных животных, а введенные внутривенно липосомы с ПХ способны устранять сладж эритроцитов в сосудах микро- и макроциркуляторного русла.

**АДРЕСНЫЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ
ТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Targeted photosensitizers for photodynamic therapy of oncological diseases

*Отвагин В.Ф., Кузьмина Н.С., Федотова Е.А., Крылова Л.В.,
Балалаева И.В., Нючев А.В., Федоров А.Ю.*

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский
государственный университет им. Н.И. Лобачевского»,
Нижний Новгород, Россия

**e-mail: afedorovNN@yandex.ru*

В докладе будет рассказано про:

- (а) основные принципы фотодинамической терапии (ФДТ);
- (б) различные типы органических конъюгатов для ФДТ и имиджинга, известные из литературных источников;
- (в) работы нашего коллектива [1-6] по созданию адресных, ферментативно- и фото-расщепляемых конъюгатов на основе природных тетрапирролов и BODIPY для комбинированной противоопухолевой терапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 24-13-00179).

Литература.

1. *Eur. J. Med. Chem.*, 2024, 269, 116283.
2. *Pharmaceutics* 2024, 16, 479.
3. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 2022, 114138.
4. *J. Med. Chem.*, 2022, 65, 3, 1695.
5. *J. Med. Chem.*, 2019, 62, 24, 11182.
6. *Eur. J. Med. Chem.*, 2018, 144, 740.

ЗАЩИТНАЯ РОЛЬ ПЛАСТОХИНОНА ПРИ УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫХ И ТЕРМИЧЕСКИХ ОЖОГАХ

Protective role of plastoquinone in ultraviolet and thermal burns

*Пашкевич Н.И.², Вильянен Д.В.¹, Ветошкина Д.В.¹, Ашихмин А.А.¹,
Пыхова Е.С.¹, Осочук С.С.², Борисова-Мубаракшина М.М.^{1*}*

¹Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пушкино, Россия

²Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, Витебск, Республика Беларусь

**e-mail: mubarakshinamm@gmail.com*

Одной из наиболее актуальных проблем биомедицины является регулирование содержания активных форм кислорода (АФК) в организме при различных заболеваниях. Термический ожог площадью более 8 – 9 % (II-IIIА степень ожогов) от общей поверхности тела характеризуется развитием локальных и системных нарушений с последующей генерализацией острого воспалительного процесса, при этом нарушение целостности клеток на фоне повышенной генерации АФК приводит к серьезным последствиям, вплоть до некроза клеток и тканей. Кроме того, в результате увеличения свободнорадикального окисления происходит изменение формы эритроцитов и, как следствие, гемолиз. Таким образом, для терапии ожогов особую актуальность приобретает разработка новых лекарственных средств с высокой антиоксидантной активностью.

В настоящей работе было исследовано влияние пластохинона, природного растительного антиоксиданта, на форму эритроцитов и морфологическую картину кожи лабораторных животных (крыс) при ультрафиолетовых и термических ожогах II-IIIА степени. Пластохинон наносили на кожу в составе липосом из фосфатидилхолина.

Ультрафиолетовые и термические ожоги статистически значимо увеличивали количество эритроцитов с измененной формой как по сравнению с интактными животными, так и по сравнению с группой стресс-контроля. Однако в крови животных, которым после обоих типов ожогов на поврежденные кожные покровы был нанесен пластохинон, включенный в липосомы (10 мкМ и 100 мкМ для ультрафиолетового; 50 мкМ для термического ожога), эритроциты с измененной формой не обнаруживались. Полученные результаты свидетельствуют о том, что накожное нанесение пластохинона оказывает защитное действие на

эритроциты, предотвращая их деформацию, повреждение и разрушение вследствие ожоговой травмы.

Кроме того, в случае термического ожога исследовали защитный эффект пластохинона на кожу и ее производные. В группе животных с термическим ожогом толщина эпидермиса уменьшалась, при этом повреждение волосяных фолликулов увеличивалось. Нанесение на поврежденные кожные покровы пластохинона в составе липосом оказывало защитный эффект на исследуемые структуры кожи; в случае нанесения липосом без пластохинона защитный эффект был менее выражен, что подтверждает протекторную роль именно пластохинона.

Таким образом, нами впервые продемонстрирована эффективность природного растительного антиоксиданта, пластохинона, в терапии ультрафиолетовых и термических ожогов. Полученные результаты могут быть использованы для разработки препаратов для комплексной терапии ожоговой болезни.

**ЛОКАЛИЗАЦИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ВЛИЯЕТ НА ДИНАМИКУ
ВТОРИЧНОЙ ПРОДУКЦИИ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В КОМПАРТМЕНТАХ
ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПОСЛЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ**

**Localization of the Photosensitizer influences the dynamics of secondary
production of Hydrogen Peroxide in the compartments of tumor cells after
Photodynamic treatment**

Пескова Н.Н., Горохова А.А., Шилягина Н.Ю.,
Брилкина А.А., Балалаева И.В.*

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»,
Нижний Новгород, Россия

**e-mail: nin-22@yandex.ru, тел. +7 960 1808814*

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – современный метод диагностики и лечения злокачественных новообразований, основанный на относительно избирательном накоплении в опухолевой ткани фотосенсибилизатора (ФС), способного при локальном воздействии света с длиной волны, соответствующей его максимуму поглощения, генерировать активные формы кислорода (АФК), которые приводят к гибели опухолевых клеток. Среди образующихся при ФД-воздействии АФК особый интерес вызывает исследование роли H_2O_2 , как одного из основных эффекторов ФД-реакции, а также участника внутриклеточных сигнальных каскадов.

Цель работы – анализ динамики вторичной продукции H_2O_2 в цитоплазме и митохондриях клеток после ФД-воздействия в присутствии ФС различной локализации.

Исследования проводились на стабильно трансфицированных клеточных линиях эпидермоидной карциномы человека A431 с экспрессией генетически кодируемого сенсора HyPer в цитоплазме (A431-HyPer-cyto) и митохондриях (A431-HyPer-mito). Для регистрации изменений уровня концентрации H_2O_2 в работе был использован ратиометрический метод, основанный на определении отношения регистрируемого сигнала флуоресценции HyPer при разных длинах волн возбуждения (I_{488}/I_{405}). В качестве ФС использовались клинически одобренный препарат Фотосенс® (ФГУП ГНЦ НИОПИК, Россия) (далее PhS) и соединение из класса порфиразинов – тетраakis(бензилоксибензил)-тетрацианопорфиразин (далее Pz), синтезированное в Институте

металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН. PhS характеризуется везикулярной внутриклеточной локализацией в лизосомах, тогда как Pz преимущественно распределяется в мембранах ЭПР и аппарате Гольджи. С целью ФД-воздействия клетки кратковременно (не превышая 60 секунд) облучались в дозах от 15 до 50 Дж/см². ФД-воздействие приводило к монотонному увеличению содержания H₂O₂ в цитоплазме и митохондриях клеток в течение длительного времени после окончания облучения (более 60 мин), а наличие дозозависимого латентного периода между воздействием и ответом может свидетельствовать о том, что накопление H₂O₂ обусловлено вторичными биохимическими процессами. Необходимо отметить, что в зависимости от физико-химических свойств ФС, митохондриальная продукция H₂O₂ может как опережать его накопление в цитоплазме, так и отставать по времени. Присутствие в среде синтетического антиоксиданта N-ацетил-L-цистеина ингибирует накопление H₂O₂ и приводит к повышению жизнеспособности облученных клеток.

Таким образом, ФД-воздействие сопровождается длительной вторичной продукцией H₂O₂, а его источники в клетках могут отличаться в зависимости от внутриклеточной локализации ФС.

Работа выполнена в рамках проекта НЦМУ «Центр фотоники», при финансировании Министерством науки и высшего образования РФ (договор № 075-15-2022-293).

**ОПТИКО-СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
КОРОНАВИРУСА SARS-CoV-2 В ВОЗДУХЕ И ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ
ТЕРАПИЯ И ЛЕЧЕНИЕ COVID-2**

**Optical-spectroscopic methods for determining coronavirus SARS-CoV-2 in the
air and photodynamic therapy and treatment of COVID-2**

Прокопьев В.Е., Панченко Ю.Н., Пучикин А.В.*

Институт сильноточной электроники СО РАН, Томск, Россия

**e-mail: prokop@ogl.hcei.tsc.ru, тел. +7 913 8023166*

Актуальность исследований обусловлена растущей в мире частотой респираторных эпидемий, вызываемых вирусными заболеваниями, таких как, атипичная пневмония, «птичий» грипп, коронавирус MERS, но и многих других новых видов (ВИЧ, СПИД, Эбола, COVID-2). Возникающие вирусные пандемии – это серьезная угроза безопасности жизнедеятельности человеческого общества, которая приводит не только к снижению его экономического потенциала, но и к возможной массовой гибели людей, ввиду отсутствия эффективного лечения множественных штаммов вируса.

В работе на основе экспериментальных регулярных наземных наблюдений интенсивности и спектра солнечного излучения в УФБ диапазоне 280 ÷ 320 нм в г. Томске ((N) 56°29', (E) 84°57') с 26.03.2020 по 25.11.2021 г.г. и анализа работ по строению и химическому молекулярному составу коронавируса (КВ) SARS-CoV-2 [1] впервые определены фотобиологические мишени (структуры) и первичные фотоакцепторы (хромофоры) этого КВ: 1) *гуанин* – азотистое основание цепи РНК SARS-CoV-2; 2) *молекулы гидроксила* – ОН рибозы в положении углерода 2' в молекуле РНК; 3) *тирозин и триптофан* – в активном центре S-белка (spike glycoprotein) КВ [2].

Полученные данные позволили рассчитать спектры фотобиологического действия инактивации SARS-CoV-2 в воздушно-капельных аэрозолях слюны и биологических образцах из первых принципов. Путём сравнения регулярных измерений спектра и интенсивности солнечного излучения в области УФБ с числом ежедневных подтвержденных новых случаев COVID-19, смертей и выздоровлений для России полученных из банка данных ресурсного центра по КВ университета Джонса Хопкинса (CRC-JHU)) показано, что заболеваемость этой болезнью для средних широт Земли имеет сезонный характер [3], также как, например, как **острых респираторных вирусных**

инфекции (ОРВИ) и гриппа имеющих широкое географическое распространение и включающих в эпидемический процесс все возрастные группы населения.

Высокая относительная плотность и разнообразие флуоресцирующих эндогенных фотоакцепторов КВ позволяют надеяться на создание дистанционного, в том числе лидарного, способы определения КВ в воздухе и окружающей среде, также как и разработать методы фотодинамической диагностики (ФТД) и фотодинамической терапии (ФДТ) путём облучения заражённых тканей и органов человека в окне прозрачности биологических тканей в области 300 -320 нм.

Литература.

1. Lu R., Zhao X., Li Ju., Niu P., Yang B., Wu H., Wang W., Song H., Huang B., Zhu N, Bi Yu., Ma X., Zhan F., Wang L., Hu T., Zhou H., Hu Z., Zhou W., Zhao L., Chen Ji., Meng Ya., Wang Ji., Lin Ya., Yuan Ji., Xie Z., Ma Ji., Liu W.J., Wang D., Wenbo Xu W., Holmes E.C., Gao G.F., Wu G., Chen W., Shi W., Tan W. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. Lancet. 2020. V. 395,N 10224. P. 565–574.
2. Prokopev V.E. Spectra of Photobiological Inactivation of SARS-CoV-2 by Solar UVB Radiation (280–320 nm). Atmospheric and Oceanic Optics, 2021, Vol. 34, No. 6, pp. 560–566.
3. Прокопьев В.Е. Сезонный и 11-летний циклический характер вирусных заболеваний. Материалы конференции «СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ФОТОБИОЛОГИИ», сс.149-150, пос. Шепси, Краснодарского края 10 – 17 сентября 2023 г. Пушино, 2023.

**ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ НЕОДИМОВОГО ЛАЗЕРА В ЛЕЧЕНИИ
ГЕНИТОУРИНАРНОГО МЕНОПАУЗАЛЬНОГО СИНДРОМА**

**Experience of using ND: YAG laser in the treatment
of Genitourinary menopausal syndrome**

Сиротина Л.З., Логинова М.М., Потапов А.Л., Мотовилова Т.М.*

ФГВПО ВО «Приволжский Исследовательский Медицинский
Университет», Нижний Новгород, Россия

**e-mail: liya.z.sirotnina@bk.ru, тел. +7 908 1628760*

Введение. Благодаря достижениям медицины и ряда других наук стало возможным увеличение длительности жизни, в связи с чем отмечается тенденция к старению населения и, соответственно, росту частоты геронтологических состояний и заболеваний [1]. Женщины проводят более одной трети своей жизни в периоде постменопаузы – состоянии, когда возникает угасание репродуктивной функции, в связи с чем возникает дефицит половых гормонов, в особенности эстрогенов [2]. Для описания проявлений дефицита половых гормонов был предложен собирательный термин «генитоуринарный менопаузальный синдром (ГУМС)», который включает в себя симптомы атрофии половых органов и нижних отделов мочевой системы. Без должного лечения качество жизни пациенток с годами стремительно ухудшается. Традиционно в лечении ГУМС применяется локальная гормонотерапия препаратами эстриола [3]. Однако наличие противопоказаний и нежелание пациентки использовать гормональную терапию побуждает специалистов к поиску альтернативных способов эффективной коррекции симптомов атрофии, к числу которых можно отнести лазерное воздействие на вульвовагинальную область.

Цели исследования: оценить эффективность воздействия неаблационным неодимовым лазером в лечении симптомов атрофии вульвовагинальной зоны (ГУМС); сравнить результаты лечения с гормональной терапией, а также изучить возможности неинвазивной оценки состояния эпителия влагалища исходно и в динамике после лечения.

В исследовании приняли участие 85 женщин, средний возраст – $56,3 \pm 0,04$ лет с классическими симптомами ГУМС. Пациентки были разделены на 2 группы: Основная группа – лазерное лечение – 70 женщин и контрольная (локальная гормонотерапия) группа – 15 пациенток.

Для изучения клинических проявлений был использован: опросник King's Health Questionnaire (KHQ), индекс вагинального здоровья (ИВЗ), цитологическое исследование с подсчетом индекса кератинизации вагинального эпителия (ИК), Мультимодальная Оптическая Когерентная Томография (ММ ОКТ) – были осмотрены 10 женщин из основной группы и 8 женщин и контрольной группы.

Пациенткам из основной группы проводилось лечение с использованием неабляционной технологии неодимового лазера «Мейджик Макс» с диодной накачкой с длиной волны 1064 нм, длительностью импульса наносекундного диапазона. Для реализации методики применяется специальный пакетный импульс «Magic Gyno» (серия импульсов, следующих друг за другом через паузу). Курс лечения составлял 3 сеанса по индивидуальным параметрам с интервалом 4-6 недель. Контрольный осмотр с оценкой параметров проводился через 1 месяц.

Результаты. По окончании лечения все женщины из обеих групп субъективно отметили значимые положительные изменения в разных сферах жизни, что подтверждается данными опросников. ИВЗ увеличился с $12,8 \pm 1,94$ до $22,4 \pm 2,44$ баллов, ИК уменьшился с 28,6% до 23,2%, по данным ММ ОКТ выявлена положительная динамика в виде утолщения эпителиального слоя. В обеих группах наблюдается корреляция динамики показателей.

Заключение. Лазерная терапия по предложенной методике в качестве альтернативного метода лечения эффективно снижает выраженность проявлений ГУМС у женщин пери- и менопаузального возраста, что подтверждается данными опросников и динамикой клинико-лабораторных и инструментальных исследования, что сопоставимо с результатами лечения традиционным способом. Метод ОКТ позволяет прижизненно и достоверно оценить степень атрофии и осуществить контроль эффективности лечения.

Литература.

1. Population ages 65 and above (% of total population). Data accessed March 29, 2021. – URL: <https://data.worldbank.org/indicator/SP.POP.65UP.TO.ZS?locations=RU>
2. Angelou K., Grigoriadis T., Diakosavvas M., Zacharakis D., Athanasiou S. The genitourinary syndrome of menopause: an overview of the recent data. *Cureus* 2020; 12(4): e7586, <https://doi.org/10.7759/cureus.7586>.
3. Макацария А. Д., Блинов Д. В., Бицадзе В. О., Хизроева Д. Х. Лечение эстриолом вульвовагинальной атрофии в постменопаузе: обновление научных данных 2014–2018 гг. *Акушерство, гинекология и репродукция* 2019; 13(3): 227–238, <https://doi.org/10.17749/2313-7347.2019.13.3.227-238>.

КОНТРОЛЬ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕВЫХ И НЕОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Monitoring of photodynamic therapy success of tumor and non-tumor diseases

Сироткина М.А.^{1*}, Потапов А.Л.¹, Губарькова Е.В.¹, Седова Е.С.²,
Гамаюнов С.В.², Гладкова Н.Д.¹

¹ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

²ГАУЗ НО НИИКО «Нижегородский областной клинический онкологический диспансер», Нижний Новгород, Россия

**e-mail: Sirotkina_m@mail.ru*

Преимуществом ФДТ является локальное воздействие на опухоль при минимальном повреждении нормальных тканей. Контроль степени нарушения кровотока в опухоли и в нормальной ткани, попадающей в зону облучения важен для минимизации повреждения здоровых тканей при хорошем опухолевом ответе. ФДТ является эффективным методом лечения аутоиммунного воспалительного заболевания склеротического лишая вульвы (СЛВ), воздействуя на кожный склероз и сосудистый компонент дермы. Из-за рецидивирующего характера заболевания и аномального синтеза коллагена восстановление ткани может происходить не полностью. Для неинвазивной оценки восстановления ткани предложено использование метода мультимодальная оптическая когерентная томография (ММ ОКТ).

Цель исследования. Оценка состояния кровотока методом оптической когерентной ангиографии (ОКА) в опухоли и окружающей нормальной ткани на ранних сроках после ФДТ, а также выявление признаков рецидива склеротического лишая вульвы после ФДТ.

Материалы и методы. Исследовано 12 пациенток с диагнозом СЛВ и 10 пациенток без патологии вульвы. ФДТ проведена медицинским лазером «Лахта-Милон» 662 нм в дозе 0,16 Вт/см² с в/в введением Фотодитазина (0,7 мг/кг). Исследование выполнено на ММ ОКТ, разработанном в Институте прикладной физики РАН (Н. Новгород). 3D-массив данных размером 3,4×3,4×1,25 мм³, получен в течение 26 с, из которого извлекалась информация о структуре ткани и микроциркуляции. Динамическое наблюдение проведено до ФДТ, сразу после ФДТ, через 24 ч., 1 мес, 3 мес. и 6 мес. после ФДТ. Гистологическое исследование выполнено до ФДТ и через 3 мес. после ФДТ.

Результаты. На опухолевых моделях животных установлено, что для полной гибели опухоли на 7й день после ФДТ необходимо прекращение кровотока в опухоли и снижение плотности сохранившихся кровотоков сосудов на границе с опухолью до значений менее 1% площади изображения через 24 ч после ФДТ.

ММ ОКТ при СЛВ демонстрирует нарушение слоистой структуры ткани вульвы из-за атрофии эпидермиса, гиперкератоза, отека и формирования склеротической дермы; снижение кровеносных и лимфатических сосудов относительно нормы. После ФДТ наблюдалось снижение плотности сосудистой сетки, вплоть до полного их исчезновения через 24 ч. Начиная с 1 мес. после ФДТ, плотность кровеносных и лимфатических сосудов постепенно восстанавливалась, достигнув максимального уровня через 3 месяца после ФДТ у пациентов без рецидива. Через 1 месяц после ФДТ коэффициент затухания показал статистически значимую разницу между случаями с рецидивом и без рецидива.

Выводы. В эксперименте установлена связь между гибелью опухоли и степенью нарушения кровотока в опухоли и окружающей ткани. ОКТ позволила выявить признаки рецидива склеротического лишая вульвы уже через 1 месяц после фотодинамической терапии по изменению коэффициента затухания ОКТ сигнала и через 3 месяца по восстановлению микроциркуляторного русла.

ФОТОАКТИВНЫЕ АГЕНТЫ НА ОСНОВЕ ХЛОРИНА-Е₆ ДЛЯ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

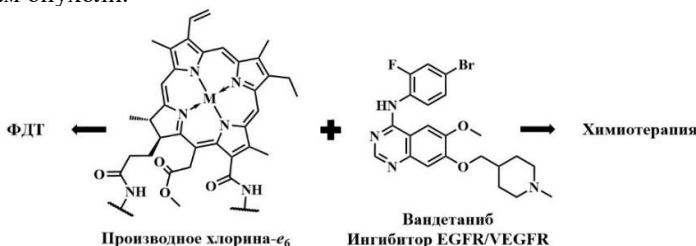
Photoactive Agents Based on Chlorin-E₆ for Combined Therapy of Oncological Diseases

Федотова Е.А., Отвагин В.Ф., Кузьмина Н.С., Грибова Г.П.,
Крылова Л.В., Балалаева И.В., Нючев А.В., Федоров А.Ю.*

Национальный исследовательский Нижегородский государственный
университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

*e-mail: necatirhe@gmail.com, тел. +7 904 3985885

Фотодинамическая терапия является стремительно развивающимся методом лечения онкологических заболеваний. К текущим ограничениям, препятствующими более широкому применению ФДТ, относят неселективность накопления фотоактивных препаратов в опухолевых тканях и их низкую цитотоксичность. Поэтому актуальной задачей является создание многофункциональных агентов, состоящих из фотосенсибилизатора, оказывающего фототерапевтический эффект при облучении, и химиотерапевтического агента, обладающего сродством к клеткам опухоли.



Нами осуществлен синтез и изучены свойства новых комбинированных агентов, связывающих фотосенсибилизатор на основе металлокомплекса хлорина- e_6 с производным цитостатического химиотерапевтического препарата *Вандетаниб*.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 24-13-00179).

Литература.

1. L.V. Krylova *et al.* ChemRxiv, 2024.
2. N.S. Kuzmina *et al.* Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2022, 114138.
3. V.F. Otvagin *et al.* Journal of Medicinal Chemistry, 2019, 62, 24, 11182.

**АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ КАТИОНОВ ЖЕЛЕЗА И ПАЛЛАДИЯ НА
ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ И ФОТОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СОЕДИНЕНИЙ
ПОРФИРАЗИНОВОЙ ПРИРОДЫ**

**Analysis of the impact of ferrum and palladium cations on photophysical and
photobiological properties of porphyrazine compounds**

Шестакова Л.Н.^{1,2*}, Лермонтова С.А.², Любова Т.С.², Горохова А.А.¹,
Клатшина Л.Г.², Балалаева И.В.¹, Шилягина Н.Ю.¹

¹Университет Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

²Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева,
Нижний Новгород, Россия

e-mail: lshn1998@yandex.ru, тел. +7 906 3631692

Среди перспективных подходов к поиску новых фотосенсибилизаторов (ФС) можно выделить модификацию уже известной структуры ФС через включение катиона металла в центр макроцикла. Цианоарилпорфиразины (Пз) представляют особый интерес в качестве потенциальных ФС, поскольку характеризуются не только фотодинамической активностью, но и высокой вязкостной чувствительностью. Благодаря этой особенности Пз потенциально могут использоваться для оценки состояния опухоли в ходе процедуры фотодинамической терапии (ФДТ). Для оценки влияния катионов железа и палладия на фотофизические и фотобиологические свойства Пз нами были синтезированы и исследованы Пз комплексы с различными боковыми заместителями в периферийном окружении макроцикла.

Нами было показано, что Пз комплексы железа и палладия характеризуются выраженным поглощением в коротковолновой и длинноволновой области видимого спектра, а также обладают интенсивной флуоресценцией в красной области спектра в диапазоне длин волн 600-650 нм. Установлено, что Пз комплексы так же как свободные основания обладают высокой чувствительностью квантового выхода флуоресценции к вязкости среды.

В эксперименте на культуре клеток эпидермоидной карциномы человека A431 регистрировали накопление Пз комплексов в мембранных органеллах клетки. При этом катион металла оказывал влияние на скорость накопления и место внутриклеточной локализации.

Для оценки участия апоптоза в гибели клеток при фотодинамическом воздействии с Пз комплексами палладия и железа был проведен анализ активации каспазы-3 с использованием генетически-

кодируемого каспаза-чувствительного сенсора Casper3 BG. Эксперименты были выполнены на линии клеток A431-Casper3BG, экспрессирующих данный сенсор в цитоплазме.

Сравнительный анализ Пз комплексов железа и палладия показал, что для Пз комплексов железа характерны большие значения квантовых выходов флуоресценции. Показано, что комплексы железа преимущественно накапливаются аппарате Гольджи и ЭПР, тогда как Пз комплексы палладия – в кариолемме. Оценка темновой и световой токсичности Пз комплексов продемонстрировала, что введение катиона палладия приводит к пятикратному увеличению фотодинамического индекса по сравнению с Пз комплексом железа. Показано, что фотодинамическое воздействие с Пз комплексом палладия преимущественно приводит к развитию каспаза-3-независимых путей гибели клеток. Для Пз комплекса железа характерно развитие как каспаза-3-зависимых, так и каспаза-3-независимых путей клеточной гибели. В целом, металлокомплексы Пз обладают перспективными фотофизическими и фотобиологическими свойствами для решения задач ФДТ онкологических заболеваний.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-23-00515).

**ОЦЕНКА МИКРОВЯЗКОСТИ МЕМБРАН ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ FLIM МИКРОСКОПИИ И
МОЛЕКУЛЯРНОГО РОТОРА ПРИ ФДТ**

**Evaluation of tumor cell membrane's microviscosity using FLIM microscopy and
molecular rotor during PDT**

Шимолина Л.Е.^{1*}, Хлынова А.Э.¹, Гулин А.А.², Елагин В.В.¹, Буреев П.А.¹,
Шерин П.С.³, Куимова М.К.³, Ширманова М.В.¹

¹Институт экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий
Приволжского исследовательского медицинского университета,
Нижний Новгород, Россия

²Федеральный исследовательский центр химической физики
им. Н.Н. Семёнова РАН, Москва, Российская Федерация

³Имперский Колледж Лондона, Лондон, Великобритания

*e-mail: shimolina.l@mail.ru, тел. +7 910 1476509

Микровязкость мембран регулирует множество биофизических и биохимических процессов, являющихся важными для жизнедеятельности клетки [1]. Известно, что изменения микровязкости мембран могут сигнализировать о серьезных нарушениях, в том числе о трансформации нормальной клетки в опухолевую [2]. Существует несколько работ, указывающих на вовлеченность этого параметра в ответ опухолевой клетки на терапевтическое воздействие, в том числе на фотодинамическую терапию (ФДТ) [3]. Цель исследования – изучение изменений микровязкости мембран клеток рака шейки матки человека при воздействии фотодинамической терапии с клиническим фотосенсибилизатором в динамике.

В работе была использована клеточная линия Hela Kyoto (рак шейки матки человека), опухолевые 3D сфероиды, мышцы линии Nude. ФДТ проводилась с химическим фотосенсибилизатором фотодитазином («Вета-Гранд», Россия) в дозе 10 мкМ для *in vitro*, 5 мг/кг для *in vivo*. Для облучения клеток использовали волоконный диодный лазер (ООО «Аткус», Россия) с длиной волны 659 нм, плотность мощности – 50 мВт/см², время - 2 мин, плотность энергии – 10 Дж/см². FLIM изображения получали на лазерном сканирующем микроскопе LSM 880 (Carl Zeiss, Германия). Детектирование времен жизни флуоресценции производилась с помощью FLIM модуля, основанного на время-коррелированном счете единичных фотонов TCSPC (Becker&Hickl GmbH, Германия).

Изначально у контрольных клеток микровязкость мембран составила 295 ± 12 сП. У клеток, инкубированных с фотодитазином – 301 ± 15 сП; у облученных клеток – 300 ± 13 сП. Спустя 10 минут после ФДТ наблюдалось значительное увеличение микровязкости мембран до 617 ± 77 сП с сохранением тенденции через 1-6 ч после ФДТ.

В клетках опухолей *in vivo* вязкость мембран в контрольных образцах без воздействия составляла 252 ± 35 сП. Однако после облучения наблюдалось статистически значимое повышение вязкости до 408 ± 28 сП, что совпадает с результатами *in vitro*. Через неделю после ФДТ вязкость опухолевых клеток была сопоставима с контрольной.

Таким образом, впервые проведено исследование вязкостных изменений мембран клеток и опухолей Hela Kyoto *in vivo* при ФДТ. Полученные результаты могут быть полезны для оценки эффективности терапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект № 20-14-00111.

Литература.

1. Shimolina LE, Izquierdo MA, López-Duarte I, et al. Imaging tumor microscopic viscosity *in vivo* using molecular rotors. *Sci Rep.* 2017;7:41097.
2. Efremov YM, Shimolina L, Gulin A, et al. Correlation of Plasma Membrane Microviscosity and Cell Stiffness Revealed via Fluorescence-Lifetime Imaging and Atomic Force Microscopy. *Cells.* 2023 6;12(21):2583.
3. Paez-Perez M, Vyšniauskas A, López-Duarte I, et al. Directly imaging emergence of phase separation in peroxidized lipid membranes. *Commun Chem.* 2023;6(1):15.

Секция 3. Биофотоника: технологии и прикладные исследования

ИССЛЕДОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ СВОЙСТВ АРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТ ГЕМОГЛОБИНА КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ КВАЗИМОНОХРОМАТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ С ДЛИНОЙ ВОЛНЫ 254 НМ

Investigation of the fluorescent properties of aromatic amino acids of human blood hemoglobin under the influence of quasi-monochromatic radiation with a wavelength of 254 nm

*Агаев М.Н., Артюхов В.Г., Колтаков И.А. *, Пукаева А.А.*

Федеральное государственное учреждение высшего образования
«Воронежский государственный университет»,
Воронеж, Россия

**e-mail: koltakov@bio.vsu.ru, тел. +7 951 8764242*

Гемоглобин является довольно хорошо изученным белком. Были проведены обширные исследования его структуры и функций, которые показали, что с помощью фотомодификации можно регулировать кислородтранспортные свойства крови. Однако анализ механизмов его функционирования в условиях воздействия высокоэнергетических излучений в больших дозах, изучено довольно слабо. Это делает нашу работу крайне важной как в фундаментальном, так и в прикладном аспекте.

Образцы гемоглобина выделяли из свежезабранной периферической крови здоровых добровольцев по методу Драккина в модификации Блюменфельда. Облучение водных растворов белка проводили с использованием модифицированной установки для облучения образцов Vilber Lourmat BLX-254 (Франция) с длинной волны 254 нм в дозах 7,2; 36; и 72 кДж/м². В процессе фотомодификации, образцы термостатировали, поддерживая температуру в камере 20°C.

На первом этапе наших исследований, мы зарегистрировали электронные спектры поглощения нативных и фотомодифицированных водных растворов оксигемоглобина человека, которые показали, что при фотомодификации происходит существенное смещение полосы Core и сглаживание альфа и бета полос поглощения гема с одновременным снижением интенсивности поглощения белковых полос.

Для понимания сути происходящих процессов, были зарегистрированы спектры триптофан-тирозиновой флуоресценции, индуцированной светом 220 нм. Было установлено смещение полос флуоресценции в длинноволновую область спектра от 332 до 336 нм пропорциональное увеличению дозы и появление полос флуоресценции фенилаланина 280 – 302 нм.

Появление фенилаланиновой флуоресценции свидетельствует о протекании в молекуле гем-белка фотохимических превращений, приводящих к снижению ее тушения, в следствие накопления продуктов фотоокисления триптофана и, в первую очередь, тирозина.

Анализ спектров тирозиновой флуоресценции, индуцированной светом с длиной волны 300 нм, показал изменение локального микроокружения тирозина, свидетелем которого является смещение максимума с 334 до 337 нм и появление фотопродуктов с максимумами флуоресценции 372 и 424 – 428 нм.

Кроме того, это подтверждается изменением полос флуоресценции, индуцированной светом 280 нм, так как в этих условиях происходит аналогичное смещение максимума флуоресценции от 331 до 342 нм.

Таким образом в ходе проведения исследования мы показали, что при фотомодификации гемоглобина крови человека в области спектра 254 нм происходит цепь процессов, которые приводят к нарушению структурной целостности белка и как следствие – нарушению его функциональной активности.

**АНАЛИЗ ИНДУКЦИОННОЙ КРИВОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА
(OJIP КРИВОЙ) ФИТОПЛАНКТОНА В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОЙ
ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ**

**Analysis of chlorophyll fluorescence induction curve (OJIP transients) of
phytoplankton under conditions of high photosynthetic activity**

*Антал Т.К.¹, Волгушева А.А.², Дрозденко Т.В.¹, Конюхов И.В.²,
Хрущев С.С.², Плюснина Т.Ю.², Ризниченко Г.Ю.², Рубин А.Б.²*

¹Псковский государственный университет, Псков, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

**e-mail: taras_an@mail.ru, тел. +7 925 0688560*

В работе исследованы экологически благополучные участки в нижнем течении и дельте реки Великой, впадающей в Псковско-Чудское озеро. На 10 станциях забора проб определяли гидрохимические показатели, видовой состав и количественные характеристики фитопланктона, а также измеряли кинетические кривые флуоресценции хлорофилла с помощью оригинального высокочувствительного флуориметра SMARTVIII. Фитопланктон на всех станциях характеризовался доминированием диатомовых микроводорослей и высокой фотохимической активностью ФС2. Станции, расположенные в дельте реки, характеризовались условиями, способствующими гетеротрофному питанию фитопланктонных видов и наличием доминирующих видов микроводорослей, которые отсутствовали на других станциях. OJIP кривые, измеренные в образцах воды на станциях выше дельты реки, имели типичную для высших растений и зеленых микроводорослей форму, которая характеризуется тремя фазами роста с выходом на максимум Р. В то же время кривые на станциях в дельте реки характеризовались такими особенностями как наличие второго максимума флуоресценции хлорофилла, а также редуцированной фазой IP. В работе обсуждается связь между этими особенностями кинетической кривой и видовым составом фитопланктона, нефотохимическим тушением в условиях темновой адаптации и др. процессами в водорослевых клетках. Понимание природы нетипичных изменений формы индукционных кривых флуоресценции хлорофилла может быть использовано при разработке экспресс методов оценки состояния фитопланктона в экологическом мониторинге.

**ПРИМЕНЕНИЕ ОПТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ
ПОВРЕЖДЕНИЙ ФЛАГОВЫХ ЛИСТЬЕВ ПШЕНИЦЫ
ПРИ ЗАСУХЕ И ЗАТОПЛЕНИИ**

**Application of optical methods for assessment of physiological damage to wheat
flag leaves during drought and flooding**

Баранова Е.Н.^{1,2}, Шелепова О.В.², Судариков К.А.¹, Латушкин В.В.²*

¹АНО Институт стратегии развития, Москва, Россия

²Главный ботанический сад Н.В. Цицина Российской академии наук,
Москва, Россия

**e-mail: greenpro2007@rambler.ru, тел. +7 903 6245971*

На начальных стадиях стресса изменения в содержании хлорофилла в растениях могут быть незначительными, однако с увеличением уровня стресса его содержание снижается. Фланговые листья пшеницы представляют основной фотосинтетический инструмент, обеспечивающий питание и налив колоса после оплодотворения. По этой причине нарушения формирования этого листа на таких переходных стадиях, как выход в трубку и колошение, а также цветение, могут ключевым образом ограничить продуктивность растений пшеницы [1]. Лабораторный метод измерения концентрации хлорофилла в листьях растений, основанный на спектрофотометрии, является золотым стандартом в диагностике повреждений фотосинтетического аппарата [2]. В связи с необходимостью пробоподготовки он весьма трудоемок. Предложены альтернативные неинвазивные методы анализа состояния растений при гиперспектральной и мультиспектральной съемке. Доступным вариантом мультиспектральной съемки является регистрация RGB с целью оценки характеристик цвета. Целью данной работы является сравнение эффективности определения содержания хлорофилла в фланговых листьях с помощью гиперспектральной и RGB-съемки.

Растения твердой яровой пшеницы сорта Оренбургская 10 (*Triticum durum* Desf.) выращивали в условиях, имитирующих естественные параметры освещения со световым днем 16/8, температура 26/22°C в Синерготрон ИСР11.02.220 (ИСР, Москва). Длительность корневого затопления и засухи соответствовала 14 суткам. За этот период наблюдали переход от стадии выхода в трубку (с отходящим под прямым углом фланговым листом) к колошению (с увеличением длины и площади фланговых листьев), сопровождающийся изменением окраски с явным снижением хлорофилла. Была проведена регистрация данных спектра и

RGB изображений флаговых листьев с помощью акустооптической гиперспектрометра и камеры Alvium 1800 U, оснащенной объективом с фокусным расстоянием 25 мм и угловым полем 16,5°. Объем выборки составил 15 растений пшеницы, что является минимально допустимым для получения достоверных данных при рандомизированном выборе. Для получения значений содержания хлорофиллов а и b, использовали спектрофотометрический анализ. Для анализа использовали участок флагового листа пшеницы на расстоянии 1,5 см от его основания. Параллельно спектральной съемке была проведена регистрация RGB-изображений с сохранением условий освещения. Известно, что RGB-пространство не всегда правильно отображает значение зеленого цвета растений, было произведено преобразование изображений в цветовую модель HSV (Hue, Saturation, Brightness), где Hue – цветовой тон, который варьируется в пределах 0–360°. Можно констатировать, что перспективы использования вегетационных индексов и значений цветового тона, полученных при обработке гиперспектральных данных и RGB-изображений, довольно высоки. Оценка на основе узкополосных вегетационных индексов превышает по точности результаты, полученные с помощью RGB съемки, однако для предварительной оценки при условии хорошего освещения оба метода могут быть рассмотрены в качестве альтернативы спектрофотометрическим анализам, требующим больших временных затрат и сложной пробоподготовки.

Литература.

1. Luo F., Deng X., Liu Y., Yan Y. Identification of phosphorylation proteins in response to water deficit during wheat flag leaf and grain development. *Botanical Studies*. 2018; 59: 28.
2. Wellburn A. R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*. 1994; 144(3): 307–313.

**МУЛЬТИМОДАЛЬНОЕ УСТРОЙСТВО ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК РАСТЕНИЙ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ**

Multi-modal device for in-field evaluation of physiological features in plants

Баташова С.С.^{1,2}, Золотухина А.А.^{2,3}, Гурьева А.В.^{1,2}, Мачихин А.С.^{2,3}*

¹Московский государственный технический университет
имени Н.Э. Баумана, Москва, Россия

²Научно-технологический центр уникального приборостроения
Российской академии наук, Москва, Россия

³Национальный исследовательский университет «МЭИ», Москва, Россия

**e-mail: sveta.batashova@yandex.ru, тел. +7 962 2725768*

Регулярный мониторинг физиологического состояния растений является важной задачей, решение которой обеспечивает выявление абиотических и биотических стрессов, фотоингибирования, нарушения метаболизма листьев и водного баланса растений. Для проведения исследований в полевых условиях с высокой производительностью используют неинвазивные оптические методы измерения такие, как спектроскопия отражения [1] и флуориметрия [2]. Большинство существующих приборов имеют ограниченный функционал, поскольку реализованы на основе только одного из методов, из-за чего комплексная оценка физиологического состояния растения требует использования нескольких устройств.

Целью данной работы является разработка компактного устройства для определения физиологических характеристик растений, объединяющего в себе три метода измерений: флуориметрию, спектроскопию отражения и пропускания. Для этого были рассчитаны осветительные системы для каждого канала устройства и общий приемный узел в виде дифракционного спектрометра. Разработан электронный блок управления параметрами освещения листа, в котором в качестве источников излучения использованы два широкополосных светодиодных модуля, излучающих в диапазоне 450–750 нм, для измерения спектров отражения и пропускания и синий светодиод с центральной длиной волны излучения 455 нм для возбуждения флуоресценции. Все элементы системы размещены в компактном и портативном корпусе устройства.

В результате проведенных расчетов и моделирования создан прототип компактного мультимодального устройства для измерения физиологических характеристик растения: флуориметрических

параметров, вегетационных индексов и пр. Такое устройство обладает более широкими функциональными возможностями в сравнении с наиболее распространенными существующими решениями и позволяет более эффективно проводить мониторинг состояния растений в полевых условиях.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках исследовательской тематики молодежной лаборатории «Оптические зондовые приборы и методы технической и биомедицинской диагностики» (FFNS-2024-0002).

Литература.

1. Калмацкая О.А. Флуоресцентные показатели листьев растений: влияние условий освещения и обработки физиологически активными веществами.: дис. канд. физ.-мат. наук/ Калмацкая Олеся Алексеевна; МГУ. – Москва, 2017. – 97 с.
2. Черепанов А.С., Дружинина Е.Г. Спектральные свойства растительности и вегетационные индексы. Геоматика. 2009. (3):28–32.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗМЕРА ЧАСТИЦ АНТИСТОКСОВЫХ НАНОФОСФОРОВ НА ФАГОЦИТОЗ ПЕРИТОНЕАЛЬНЫМИ МАКРОФАГАМИ

Баушева Д.К., Белотелов А.О., Звягин А.В., Гурьев Е.Л.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Россия

bausheva16@mail.ru

Наноразмерные антистоксовые фосфоры (НАФ) являются перспективной платформой для создания тераностических агентов. НАФ обладают уникальными физико-химическим свойствам, возбуждением и эмиссией на длинах волн, попадающими в «окно прозрачности» биоткани. Данные свойства позволяют осуществлять эффективную прижизненную визуализацию клеток и тканей методами оптического имиджинга.

В ряде исследований было показано преимущество перитонеальных инъекций перед внутривенными инъекциями по эффективности адресной доставки препаратов в перитонеальные опухолевые очаги. В следствие этого мы предполагаем, что перитонеальные макрофаги способствуют транспорту наночастиц в опухоль.

Целью данной работы было исследование влияния размера частиц НАФ различного размера на фагоцитоз перитонеальными макрофагами.

Для достижения гидрофильности и биосовместимости наночастиц, поверхность НАФ ($\text{NaYF}_4:\text{Yb,Tm}$) модифицировали с помощью сополимера малеинового ангидрида с 1-октадеценом (СМАОД) и поли(молочнокислой со-гликолевой) кислотой (ПЛГА). В качестве второго слоя оболочки было выбрано покрытие полиэтиленгликолем (ПЭГ). Гидродинамический диаметр частиц составил ~100 нм для НАФ-СМАОД-ПЭГ и ~750 нм для НАФ-ПЛГА-ПЭГ.

Исследования *ex vivo* проводили на макрофагах из перитонеального транссудата мышей линии Balb/C. Частицы НАФ-СМАОД-ПЭГ и НАФ-ПЛГА-ПЭГ в количестве 200 мкг вводили мышам в перитонеальную полость. Через 3 ч выделяли перитонеальные клетки из внутрибрюшной полости путём введения теплого PBS в перитонеальную полость и обратным забором жидкости в шприц. Перитонеальные клетки из транссудата высевали в лунки 96-луночного конфокального планшета, инкубировали в течение 2 ч (37°C, 5% CO_2). Полученные препараты исследовали методом конфокальной лазерной флуоресцентной микроскопии. Результаты исследования показали значительно большее

накопление мелких частиц НАФ-СМАОД-ПЭГ в перитонеальных макрофагах по сравнению с крупными частицами НАФ-ПЛГА-ПЭГ.

На данный момент продолжаются исследования влияния размера наночастиц на эффективность адресной доставки нанок комплексов в перитонеальные опухолевые очаги.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ (проект FSWR 2023-0032).

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ УФ- ОБЛУЧЕНИЯ НА СВЯЗЫВАНИЕ БСА
С БЕНЗИЛПЕНИЦИЛЛИНА НАТРИЕВОЙ СОЛЬЮ**

**Research on the effect of UV irradiation on the binding of BSA
to benzylpenicillin sodium salt**

*Баширина О.В., Лушева А.А. *, Секретарева У.С., Котова А.О.*

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

**e-mail: saschaluscheva@gmail.com тел. +7 900 3092897*

Введение. Взаимодействие антибиотика бензилпенициллина с сывороточным альбумином может значительно влиять на его эффективность и фармакокинетические свойства. УФ-излучение, часто применяемое в клинических условиях, изменяет свойства белка и модулировать это взаимодействие.

Целью исследования явилось изучение влияние УФ-облучения (254 нм) на связывание молекулы бычьего сывороточного альбумина (БСА) с антибиотиком. В качестве объектов выступали растворы бычьего сывороточного альбумина (Sigma, $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л в 0.1 моль/л Na-фосфатном буфере, pH 7.4), а также бензилпенициллина натриевая соль (БП) (БиоФармГарант, Россия) в конечной концентрации $3 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Отличия в контрольных и опытных пробах анализировали с помощью метода попарных сравнений, используя t-критерий Стьюдента при уровне значимости $< 5 \%$.

Результаты и их обсуждение. При добавлении БП к буферному раствору альбумина происходит снижение оптической плотности в полосе поглощения БСА, обусловленной вкладом ароматических аминокислот, при этом снижение в максимуме поглощения ($\lambda_{\text{max}} = 278$ нм) составляет 7 %, положение максимума и тонкая структура спектра не изменяются. Такое изменение спектральных свойств БСА можно объяснить образованием комплекса БСА-БП, в котором изменяется конформация белка.

Известно, что при УФ-облучении растворов БСА происходит дозозависимое повышение их оптической плотности, что было подробно описано нами ранее [1]. Так, при облучении в дозе 1510 Дж/м^2 повышение оптической плотности БСА при 278 нм составляет 11 %, но после добавления к данному раствору БП выявлено снижение данного параметра. Аналогичные изменения происходят и при облучении в дозе 755 Дж/м^2 . УФ-облучение изменяет конформацию и функциональные

свойства белка. Так, при облучении в дозе 3020 Дж/м² снижение оптической плотности после добавления БП составляет всего 4 % (но статистически значимо), это указывает на нарушение связывания фотомодифицированного БСА с антибиотиком.

Также был измерен гидродинамический радиус молекулы БСА. Радиус нативного белка составил 5.14 ± 0.39 нм. Выявлено, что после облучения происходит дозозависимое увеличение гидродинамического радиуса до 6.25 ± 0.46 нм, что указывает на декомпактизацию глобулы и согласуется со спектральными данными о повышении оптической плотности, при этом увеличивался также и радиус агрегатов белка. Добавление БП не приводило к изменению гидродинамического радиуса.

Заключение. Таким образом, оптическая плотность растворов БСА уменьшается при добавлении к ним БП, соответственно, происходит изменение конформации белка при образовании комплекса с лигандом. Фотомодификация БСА в высоких дозах снижает вероятность образования данного комплекса.

Литература.

1. Применение спектральных методов для изучения структурных перестроек в молекулах фотомодифицированного сывороточного альбумина / О. В. Башарина, В. Г. Артюхов, А. А. Лушева, У. С. Секретарева // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2022. – № 1. – С. 53-59.

**КОМБИНИРОВАННАЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ И ПЛАЗМОННАЯ
ФОТОТЕРМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ У МЫШЕЙ С ПЕРЕВИТЫМИ ОПУХОЛЯМИ**

**Combined photodynamic and plasmonic photothermal therapy in mice with
transplanted tumors**

Бучарская А.Б.^{1,2}, Генин В.Д.², Наволокин Н.А.^{1,2}, Шушунова Н.А.^{1,2},
Гуслякова О.И.², Генина Э.А.², Хлебцов Б.Н.^{2,3}, Хлебцов Н.Г.^{2,3}, Тучин В.В.²*

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Саратов, Россия

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Саратов, Россия

³Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук», Саратов, Россия

**e-mail: allaalla_72@mail.ru, тел. +7 905 3850895*

Актуальность разработки новых комбинированных методов противоопухолевой терапии обусловлена недостаточной эффективностью стандартных видов терапии для лечения опухолей труднодоступных локализаций. Целью исследования была разработка комбинированной технологии фотодинамической терапии (ФДТ) и плазмонной фототермической терапии (ПФТ) у мышей с перевитым колоректальным раком СТ-26.

Мышам Balb/c прививали внутримышечно по 20 мкл взвеси клеток колоректального рака СТ-26 ($2.5 \cdot 10^5$ клеток), при достижении опухоли объема 60 мм³, проводили комбинированную ФДТ/ПФТ терапию. В качестве фотосенсибилизатора использовали индоцианин зеленый, который разводили в полиэтиленгликоле (ПЭГ) в соотношении 1:100 и вводили мышам внутритуморально в дозе 2 мг/кг. Для ПФТ внутритуморально вводили золотые наностержни (ЗНС), функционализированные ПЭГ, в концентрации 400 мкг/мл в объеме 30% от объема опухоли. Через час после инъекций опухоль облучали чрескожно диодным инфракрасным лазером 808 нм LS-2-N-808-10000

(Россия) при плотности мощности 2.3 Вт/см^2 в течение 10 мин. Температуру локального нагрева опухоли измеряли тепловизором IRYSYS 4010 (UK). Вывод животных и отбор образцов тканей опухоли для гистологического исследования проводили через 21 день после терапии. Морфологические исследования ткани опухоли проводили на срезах опухоли, окрашенных стандартными методами.

При проведении комбинированной ФДТ/ПФТ терапии отмечали выраженный подъем температуры локального нагрева опухоли, вплоть до $55 \pm 4.1^\circ\text{C}$, после проведения терапии наблюдали на коже в области воздействия лазера появление ожоговой поверхности коричневатого цвета. Через 72 часа наблюдали выраженные некротические изменения в опухолевой ткани, через 21 день отмечали значительное торможение роста опухолей.

Предложенная технология комбинированной ФДТ и ПФТ терапии вызывает выраженное повреждение опухолевой ткани у мышей с перевитым колоректальным раком СТ-26.

Работа была поддержана СГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России (перспективный проект № SSMU-2022-002).

ПОЛУПРОВОДНИКОВЫЕ КВАНТОВЫЕ ТОЧКИ ДЛЯ БИОИМИДЖИНГА

Semiconductor quantum dots for bioimaging

Васин А.А.^{1,2*}, Добряков А.Л.^{1,2}, Костров А.Н.^{1,2}, Гостев Ф.Е.^{1,2},
Шелаев И.В.^{1,2}, Надточенко В.А.^{1,2,3}

¹Федеральный исследовательский центр химической физики
им. Н.Н. Семенова, Москва, Россия

²Московский физико-технический институт (национальный
исследовательский университет, МФТИ), Институтский пер.9,
Долгопрудный, Московская область, Россия

³Химический факультет Московского государственного университета,
Москва, Россия

*e-mail: a2vasin@yandex.ru, тел. +7 968 7370494

Полупроводниковые квантовые точки – фрагменты полупроводников, размеры которых сопоставимы с Боровским радиусом для данного полупроводника. При возбуждении квантовых точек, образующиеся заряды – электроны и дырки, находясь в потенциальном барьере, подвержены квантовым эффектам. Все это наделяет квантовые точки рядом уникальных свойств: высокий коэффициент экстинкции, широкий спектр поглощения, узкий спектр флуоресценции, высокая подвижность свободных зарядов [1]. Благодаря этому квантовые точки находят все более широкое применения в различных областях, в частности в биоимиджинге. Кроме того, по сравнению с большинством органических растворителей квантовые точки обладают большей стабильностью к фотообесцвечиванию и имеет на несколько порядков большее сечение поглощения для двухфотонного возбуждения [2].

Однако, использование квантовых точек в биоимиджинге требует получение их водных дисперсий. Квантовые точки можно создавать непосредственно в воде, но они часто имеют узкий диапазон доступных размеров и широкое распределение по размерам. Солюбилизация же квантовых точек, полученных в органических растворителях, часто приводит с ухудшением квантового выхода [3]. Поэтому актуальной задачей является исследование механизмов воздействия растворителей на оптические свойства квантовых точек.

В рамках данной работы были получены и проанализированы спектры поглощения, флуоресценции, комбинированного рассеивания, а также спектры переходного поглощения, полученные методом фемтосекундной спектроскопии накачки-зондирования квантовых точек в

различных растворителях для определения механизмов воздействия растворителя на квантовые точки. Показано, что вода может как приводить к химической модификации поверхности квантовых точек с образованием ловушечных состояний, так и воздействовать скорости переноса заряда.

Работа выполнена при поддержке государственного задания на оказание государственных услуг (выполнение работ) от 17.01.2024 № 075-03-2024-117.

Литература.

1. Alivisatos A.P. et al. Electronic states of semiconductor clusters: Homogeneous and inhomogeneous broadening of the optical spectrum // J Chem Phys. AIP Publishing, 1988. Vol. 89, № 7. P. 4001–4011.
2. Zrazhevskiy P., Sena M., Gao X. Designing multifunctional quantum dots for bioimaging, detection, and drug delivery // Chem Soc Rev. NIH Public Access, 2010. Vol. 39, № 11. P. 4326.
3. Yu W.W. et al. Water-soluble quantum dots for biomedical applications // Biochem Biophys Res Commun. Academic Press, 2006. Vol. 348, № 3. P. 781–786.

**СВЕРХСЛАБАЯ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ НЕРАЗВЕДЕННОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА
ВЫЯВЛЯЕТ РЕГУЛЯТОРНУЮ РОЛЬ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ЕЕ
ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ**

**The ultra-weak luminescence of undiluted human blood reveals the regulatory
role of reactive oxygen species in its functional activity**

*Воейков В.Л., Буравлева Е.В.**

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

**e-mail v.l.voeikov@gmail.com, тел. +7 916 4313311*

По существующим представлениям, сверхслабая люминесценция (ССЛ) биологического объекта является результатом генерации и релаксации электронно-возбужденных состояний (ЭВС) в ходе реакций с участием активных форм кислорода (АФК). Многочисленные исследования посвящены изучению ССЛ, сопровождающей такие реакции в суспензиях нейтрофилов или сильно разбавленных препаратах крови. Неразбавленная кровь для этих исследований, как правило, не используется, поскольку предполагается, что гемоглобин должен полностью подавлять ССЛ. Однако мы установили, что неразбавленная кровь человека служит надежным источником ССЛ как в отсутствие, так и в присутствии ее усилителей: маркера образования H_2O_2 люминола (ЛМ-ССЛ) или маркера образования O_2^- люцигенина (ЛЦ-ССЛ).

ЛЦ-ССЛ крови наблюдается в состоянии покоя, что свидетельствует о постоянной продукции в ней АФК. ЛМ-ССЛ в отсутствие активаторов дыхательного взрыва (ДВ) очень низка и наблюдается лишь через 10-12 ч после выделения крови, но при активации ДВ интенсивность ЛЦ-ССЛ быстро и надолго возрастает. Гемоглобин, делающий кровь непрозрачной, упакованный в эритроциты, не препятствует ССЛ. При этом она практически исчезает при добавлении в кровь свободного гемоглобина. Возможность регистрировать ССЛ из такой непрозрачной жидкости свидетельствует, что энергия электронного возбуждения может, по крайней мере частично, мигрировать в крови без рассеяния. Можно предположить, что гемоглобин – основной кандидат на рассеивание энергии электронного возбуждения – не делает этого в крови, поскольку он присутствует в эритроцитах в жидкокристаллическом состоянии.

ССЛ крови чувствительна к сигналам очень низкой интенсивности. В частности, на ее параметры в ходе ДВ могут влиять фотоны, излучаемые

кровью и возвращенные в нее обратно. Они усиливают медленно развивающийся и тормозят быстро развивающийся ДВ. С другой стороны, ССЛ относительно устойчива к колебаниям температуры, что отражается в гистерезисе ССЛ в ответ на повышение и понижение температуры. Интенсивность ССЛ крови парадоксальным образом зависит от объема пробы – отбор крови из пробирки может значительно усиливать интенсивность ССЛ.

Параметры ССЛ крови также зависят от физиологического состояния донора. В частности, при ишемической болезни сердца ЛМ-ССЛ свежей крови без дополнительных воздействий многократно превышает таковую в крови здоровых доноров, а при добавлении зимозана может даже парадоксальным образом снижаться. Эффект усиления интенсивности ССЛ от отбора крови из пробирки также зависит от физиологического состояния донора.

Полученные результаты позволяют предположить, что ССЛ из нативной крови свидетельствует о постоянной продукции и элиминации в ней АФК. Учитывая, что в ходе таких реакций генерируется энергия ЭВС, мы предполагаем, что сложные системные свойства цельной крови позволяют ей сохранять энергию, выделяющуюся в ходе реакций с участием АФК, для поддержания собственной жизнеспособности и выполнения ее физиологических функций.

**ТЕМПЕРАТУРНАЯ ЗАВИСИМОСТЬ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ
ТРИПТОФАНА В СОСТАВЕ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО И БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО
АЛЬБУМИНА В РАЗЛИЧНЫХ УЧАСТКАХ СПЕКТРА**

The effect of temperature on the fluorescence lifetime of tryptophan in human and bovine serum albumin in different parts of the spectrum

Горохов В.В., Нокс П.П., Корватовский Б.Н., Гришианова Н.П.,
Горячев С.Н., Пащенко В.З.*

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Биологический факультет, Москва, Россия

**e-mail: korbor@biophys.msu.ru, тел. +7 903 5133481*

Известно, что функционирование каталитических белков тесно связано с их конформационной динамикой. Для многих белков, таких, например, как фотосинтетический реакционный центр (РЦ) пурпурных бактерий наблюдаются переходы между определенными конформационными подсостояниями, контролирующими их активность. Детальное изучение молекулярно-релаксационных характеристик функциональных белков по флуоресценции внутренних триптофановых индикаторов в диапазоне температур от криогенных до комнатных может дать значимую информацию для анализа механизмов осуществляемых ими функциональных процессов. В нашей работе была исследована температурная зависимость длительности флуоресценции триптофана (Trp) в составе человеческого и бычьего сывороточного альбумина в водном растворе и глицерине в диапазоне температур от -170°C до $+20^{\circ}\text{C}$. Построена модель прямых и обратных электронных переходов в молекуле Trp из возбужденного состояния в основное состояние и в состояние с переносом заряда (CTS). Были определены три основные спектральные области флуоресценции триптофана (300 – 386 нм, 386 – 400 нм и 400 – 425 нм) с различным поведением температурных зависимостей скоростей перехода из возбужденного состояния триптофана в CTS. Установлено, что динамика системы водородных связей в выделенных спектральных областях оказывает определяющее влияние на характер изменения длительности флуоресценции триптофана. Обнаруженная в работе нелинейная зависимость скоростей внутримолекулярных переходов от температуры определяется взаимодействием молекул триптофана с его микроокружением. Перестройки в системе водородных связей белка альбумина, содержащего триптофан, оказывают определяющее влияние на процессы дезактивации возбуждения в Trp*. Используемый в работе

спектрально-динамический подход при исследовании температурных зависимостей процессов переходов возбужденных состояний Tgr может быть полезен при исследовании переходов возбужденных пигментов в белковой среде, обладающей упорядоченной системой водородных связей. В качестве примера можно привести направленный перенос электрона по активной цепи в фотосинтетических РЦ пурпурных бактерий, несмотря на близкую симметрию активной и неактивной цепей. В этом случае перенос электрона по неактивной цепи может быть блокирован за счет изменения движущей силы ΔG в результате фазового перехода в системе водородных связей, в то время как для активной цепи осуществляется режим безактивационного переноса электрона. Физически это может выглядеть, как возникновение в результате фазового перехода в активной и неактивной цепях противоположно направленных электрических полей, одно из которых блокирует движение электрона по неактивной цепи, другое обеспечивает его безактивационный перенос по активной цепи.

БИОФОТОНИКА В СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Гудков С.В.

ИОФ РАН, ВИМ, Москва, Россия

Изменение климата и борьба за сохранение окружающей среды обитания, требуют разработки и внедрения новых решений и подходов, в том числе и в сельском хозяйстве. В процессе выполнения Крупного научного проекта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в ФНАЦ ВИМ и ИОФ РАН получены следующие результаты:

Создан прототип проточного датчика для доильных систем для определения аномальных характеристик молока (примеси крови, обводненность и другое) и его компонентного состава (жир, белок, лактоза). Для этого созданы оптические технологии позволяющие контролировать скорость течения сильно светорассеивающих жидкостей. Созданы оптические технологии позволяющие обнаруживать в сильно светорассеивающих жидкостях объекты размером 10-100 мкм (размер клетки животного). Созданы оптические технологии позволяющие оценивать количество и качество рассеивателей в биологических жидкостях. Созданы оптические технологии позволяющие оценивать в молоке концентрации основных биомолекул. Разработана экспресс технология оценки качества молока путем анализа наличия в нем энтеротоксинов стафилококков и антибиотиков (хлорамфеникола).

Созданы экологически безопасные и энергоэффективные трансформирующие солнечный свет покрытия для увеличения продуктивности закрытых грунтов в условиях северных широт. Для этого разработаны методы получения наночастиц с необходимыми оптическими и магнитными свойствами. Созданы технологии получения наноструктурированных поверхностей с нужными физическими и биологическими свойствами. Разработан низкотемпературный метод включения наночастиц в полимерную матрицу. Создана технология упорядочивания наночастиц в полимерной матрице. Разработана технология нанесения фотоконверсионных композитов на стекло и полимерные материалы, в том числе и нетканые. Разработан ряд перспективных конструкционных нано- мезо- и макроматериалов для тепличных хозяйств.

Созданы технологии нейтрализации патологических процессов у растений с помощью холодной плазмы и плазмолитов. Для этого созданы установки для получения плазмолитов на основе низкотемпературной плазмы: 1. Стенерированной пьезотрансформаторами (малогабаритная

переносная установка холодной плазмы); 2. На основе плазмы тлеющего разряда в жидкости (полупромышленная/исследовательская); 3. На основе магнетронной генерации плазмы (промышленная установка). На основе плазмолитов разработаны технологии обеззараживания семян растений от патогенной микрофлоры. Для культур просо разработаны технологии интенсификации развития корневой системы (повышение засухоустойчивости). На основе плазмолитов разработана система обработки привоя и подвоя повышающая вероятность успеха прививки для плодовых растений яблони, груши, вишни и черешни.

На основе беспилотного летательного аппарата создана система по экспресс оценке функционального состояния полей. Для этого разработан лазерно-оптический классификатор семян и биомассы, позволяющий различать зараженные и не кондиционные части растений. Для детекции фитопатогенов разработаны протоколы применения лидарных технологий, спектроскопии, растровой гиперспектральной визуализации, рамановского рассеяния. Разработаны технологии сканирования множества объектов с разных ракурсов, распознавания объектов, их формы и других топологических параметров. Разработаны алгоритмы дистанционного мониторинга и экспресс-диагностики функционального состояния растений. Разработан прототип робота-транспортёра позволяющего сепарировать зараженное и здоровое зерно.

ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ *ex vivo* СРЕЗОВ ТКАНИ ЯИЧНИКОВ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ 99,5% ГЛИЦЕРИНА

Study of changes in the optical properties of *ex vivo* sections of ovarian tissue under the influence of 99.5% glycerol

Елизаров А.Д.^{1}, Селифонова Е.И.¹, Рыхлов А.С.², Тучин В.В.^{1,3,4}*

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

²Клиника «Ветеринарный госпиталь» Саратовского государственного университета генетики, биотехнологии и инженерии им. Н.И. Вавилова, Саратов, Россия

³Лаборатория лазерной молекулярной визуализации и машинного обучения, Национальный исследовательский томский государственный университет, Томск, Россия

⁴Лаборатория лазерной диагностики технических и живых систем, Институт точной механики и управления ФНЦ «Саратовский научный центр РАН», Саратов, Россия

**e-mail: elizsenya@mail.ru, тел. +7 908 5517455*

Аннотация. В работе было проведено *ex vivo* исследование изменений оптических свойств ткани яичников в трех состояниях (фолликулярная и лютеиновая фазы, поражение синдромом поликистозных яичников) под действием раствора глицерина 99,5%.

Материалы и методы. В работе была использована спектроскопия диффузного отражения и пропускания, а также модель свободной диффузии.

Ключевые слова. Спектроскопия диффузного отражения и пропускания, оптическое просветление, яичники, синдром поликистозных яичников.

Исследование оптических свойств ткани яичников, а также диффузионных процессов переноса тканевой воды и гиперосмотических агентов является перспективным направлением для изучения многих биофизических процессов [1].

Основной проблемой использования оптических методов в медицине является высокий уровень ослабления и диффузного перераспределения, что уменьшает глубину зондирования.

Решить данную проблему можно, используя различные технологии управления оптическими свойствами биотканей. В данной работе в качестве ОПА был использован глицерин 99,5%.

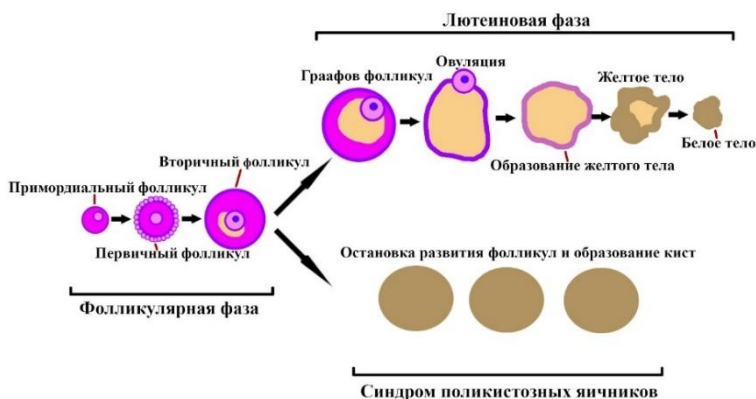


Рис. 1 Схема овариального цикла [2].

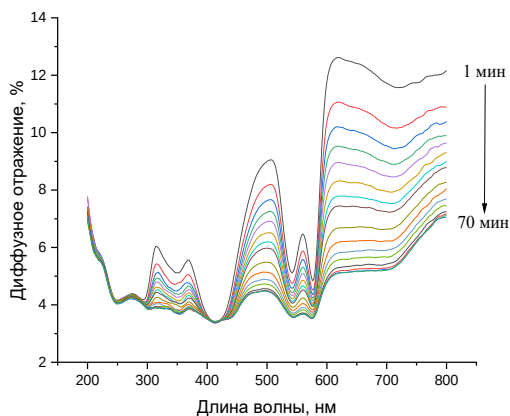


Рис. 2. Пример изменения СДО образца под действием ОПА.

На рис. 3 – 8 представлены диаграммы эффективности просветления для образцов, каждый столбец диаграммы обозначает диапазон длин волн равный 50 нм.

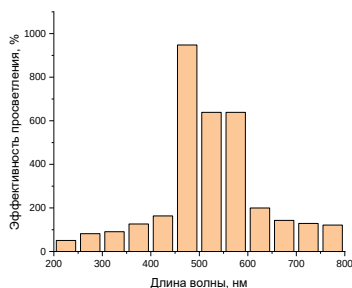


Рис. 3. Эффективность просветления образца в фолликулярной фазе.

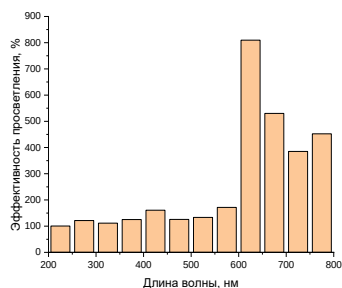


Рис. 4. Эффективность просветления образца в лютеиновой фазе.

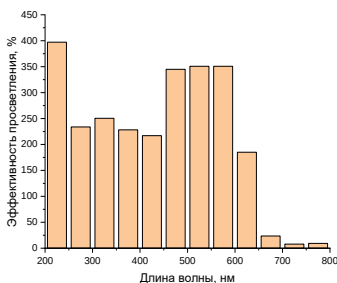


Рис. 5. Эффективность просветления образца, пораженного поликистозом.

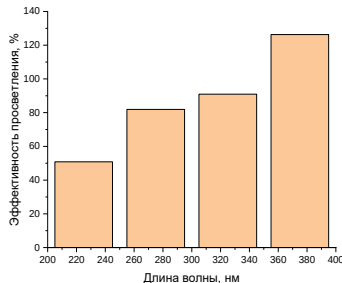


Рис. 6. Эффективность просветления образца в фолликулярной фазе в УФ диапазоне длин волн.

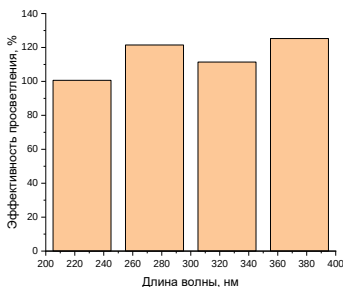


Рис. 7. Эффективность просветления образца в лютеиновой фазе в УФ диапазоне длин волн.

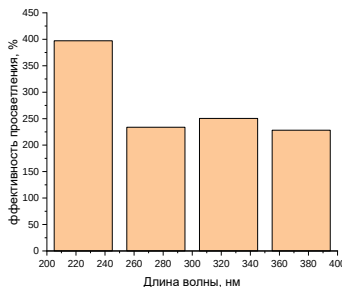


Рис. 8. Эффективность просветления образца, пораженного поликистозом в УФ диапазоне длин волн.

Для УФ части спектра наибольшая эффективность просветления для фолликулярной фазы составила ~125% при 375 нм. В лютеиновой фазе наибольшая эффективность в ~125% наблюдается в диапазоне от 250 до 400 нм. В случае поражения поликистозом, наибольшая эффективность просветления достигается при центральной длине волны в 225 нм и составляет ~400%.

Использование методики оптического просветления уменьшает рассеяние и поглощение ткани, что ведет к увеличению пропускания и глубины проникновения света в ткань. Это может существенно повысить эффективность ПУФА-терапии, которая применяется для лечения различных кожных заболеваний, таких как псориаз и экзема [3], и снизить дозу УФА облучения. Эффективность просветления на длине волны 365 нм составляет 120 – 200%, что может быть использовано при фотодинамической терапии с использованием рибофлавина [4].

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-14-00287.

Литература.

1. Селифонов А. А., Рыхлов А. С., Тучин В. В. Ex vivo исследование кинетики оптических свойств тканей яичников под действием 40%-глюкозы // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Физика. 2023. Т. 23, вып. 2. С. 120–127.
2. Burkman R. T. Atlas of pelvic anatomy and gynecologic surgery. The Journal of the American Medical Association, 2011, vol. 306, no. 18, pp. 2031–2038.
3. Kanayama, Y. & Torii, K. & Ikumi, Katsumata & Morita, Akimichi. (2021). 082 Bath-PUVA therapy ameliorates pathogenetic chemokines for psoriasis. Journal of Investigative Dermatology.
4. Seifert, F. K., Theuersbacher, J., Schwabe, D., Lamm, O., Hillenkamp, J., & Kampik, D. (2022). Long-Term Outcome of Corneal Collagen Crosslinking with Riboflavin and UV-A Irradiation for Keratoconus. *Current Eye Research*, 47(11), 1472-1478.

**ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ МАРКЕРЫ И МЕТОДЫ ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ
ИММУНОРЕАГЕНТОВ И АНАЛИТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ**

**Fluorescent markers and methods for immunoreagents characterization and
analytical applications**

Еремин С.А.^{1,2}, Жердев А.В.¹*

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

²Химический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

**e-mail: eremin_sergei@hotmail.com, тел. +7 495 9394192*

Флуоресцентные соединения являются весьма перспективными маркерами для биоаналитического применения вследствие возможностей выявлять меченые межмолекулярные комплексы в крайне низких концентрациях, а также регистрировать лиганд-рецепторные взаимодействия по изменениям оптических свойств маркеров. В связи с этим для решения задач медицинской и ветеринарной диагностики, контроля безопасности потребительской продукции, экологического мониторинга активно разрабатываются и применяются биоаналитические системы, реализующие принципы гетерогенного (мембранного и микропланшетного) и гомогенного (с регистрацией поляризации флуоресценции и межмолекулярного переноса энергии) флуоресцентного анализа. В сообщении будут представлены разработки последних лет, расширяющие области аналитического применения флуоресцентных маркеров благодаря использованию новых рецепторов, флуорофоров, схем формирования специфических комплексов – см. недавние обзоры авторов [1, 2] и экспериментальные данные последних лет.

Для систем поляризационного флуоресцентного анализа низкомолекулярных соединений будут рассмотрены возможности модуляции чувствительности и специфичности при использовании комплексов аналит-флуорофор разной структуры. Будут представлены разработки аналитических систем для выявления антибиотиков разных химических классов, различения физиологически активных и неактивных стереоизомеров (например, форм офлоксацина и других фторхинолоновых антибиотиков) в иммуноанализе. В качестве реагентов для поляризационного флуоресцентного анализа будут сопоставлены антитела как белковые рецепторы и аптамеры как олигонуклеотидные, охарактеризованы специальные решения для снижения предела

обнаружения в аптамерном поляризационном флуоресцентном анализе. Будут обсуждены возможности применения различных сочетаний флуорофор-тушитель в гомогенных аналитических системах с Фёрстеровским резонансным переносом энергии, эффективность использования в таких системах разных лиганд-рецепторных комплексов. Исходя из кинетики аналитических взаимодействий, будет показана возможность экспрессного (5-10 минут) одностадийного тестирования с выявлением целевых аналитов в режиме реального времени. Применительно к гетерогенному иммуноанализу будет охарактеризовано разнообразие низкомолекулярных и нанодисперсных маркеров, преимущества регистрации флуоресценции по сравнению с колориметрией. Будут представлены флуоресцентные аналитические системы для внелабораторного применения, используемые для этого наборы реагентов и портативные детекторы.

Работа выполняется при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 24-46-00026.

Литература.

1. Hendrickson O.D., Taranova N.A., Zherdev A.V., Dzantiev B.B., Eremin S.A. (2020) Fluorescence polarization-based bioassays: New horizons. *Sensors*. 20(24), 7132.
2. Mukhametova L.I., Eremin S.A. (2024) Fluorescence polarization assays for organic compounds in food safety. *Frontiers in Bioscience (Elite edition)*. 16(1), 4-10.

**СРАВНЕНИЕ КОЛОРИМЕТРИЧЕСКОГО И МУЛЬТИСПЕКТРАЛЬНОГО
МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ХЛОРОФИЛЛА
В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ**

**Comparison of colorimetric and multi-spectral approaches
to chlorophyll content evaluation**

Золотухина А.А.^{1}, Беляева А.С.^{1,2}, Мачихин А.С.¹,
Лысов А.К.³, Ладан С.С.⁴*

¹Научно-технологический центр уникального приборостроения
Российской академии наук, Москва, Россия

²Государственный университет аэрокосмического приборостроения,
Санкт-Петербург, Россия

³Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений
Санкт-Петербург, Россия

⁴Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии им. Д.Н.
Прянишникова, Москва, Россия

**e-mail: zolotukhina.aa@ntcup.ru, тел. +7 987 4115986*

Бесконтактные и высокопроизводительные оптические методы мониторинга физиологического состояния растений необходимы для решения задач точного земледелия. Например, применение видеоспектрометров (гипер- и мультиспектральных камер) с борта беспилотных летательных аппаратов и прицепной техники обеспечивает своевременную оценку пигментного состава листьев растений, что позволяет оптимизировать агротехнические решения. Оценка содержания хлорофиллов и каротиноидов может быть проведена на основе их эмпирической связи с вегетационными индексами [1]. Более доступной альтернативой является использование цветных камер, с помощью которых становится возможным определение изменений цвета листьев [2], вызванных дефицитом питательных веществ и влаги, фитопатологиями и старением. Однако как цвет листа, так и его спектральный коэффициент отражения определяет не только пигментный состав, но и физиологические особенности растения [3]. В связи с этим необходимым является сравнение колориметрических характеристик, вегетационных индексов и содержания пигментов в листьях растений различных культур.

После измерений спектрального коэффициента отражения листьев 7 культур, была проведена экстракция пигмента из растительных образцов и определение их концентрации с помощью спектрофотометрического метода. Сравнительный анализ полученных после обработки спектров

отражения значений вегетационных индексов и координат цветности x , y в цветовом пространстве CIE 1931 показал, что листья, имеющие близкое положение в цветовом пространстве отличаются содержанием пигментов более чем в 2 раза, при этом вегетационные индексы красного края показали значительную корреляцию ($r = 0,8$) с концентрацией пигментов. В результате работы начато формирование базы данных с использованием мультиспектральных систем мониторинга состояния растений с учетом их физиологических особенностей, которые имеют спектральные каналы как в видимой области спектра для оценки изменения цвета листьев, так и в ближней инфракрасной области для оценки содержания в них пигментов.

Работа выполнена в рамках Государственного задания НТЦ УП РАН (проект FFNS 2022-0010). Эксперименты проводились на базе Центра коллективного пользования НТЦ УП РАН [456451, <https://ckp.ntcup.ru>].

Литература.

1. Shi H. et al. Estimation of Chlorophyll Content in Soybean Crop at Different Growth Stages Based on Optimal Spectral Index // *Agronomy* 2023, Vol. 13, Page 663. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 2023. Vol. 13, No 3. P. 663.
2. Colovic M. et al. Comparative Performance of Aerial RGB vs. Ground Hyperspectral Indices for Evaluating Water and Nitrogen Status in Sweet Maize // *Agronomy* 2024, Vol. 14, Page 562. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 2024. Vol. 14, No 3. P. 562.
3. Croft H., Chen J.M., Zhang Y. The applicability of empirical vegetation indices for determining leaf chlorophyll content over different leaf and canopy structures // *Ecological Complexity*. Elsevier, 2014. Vol. 17, No 1. P. 119–130.

**ДИНАМИЧЕСКОЕ ОСВЕЩЕНИЕ ВЛИЯЕТ НА УРОЖАЙНОСТЬ,
БИОМЕТРИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТОМАТОВ**

**Dynamic lighting affects the yield, biometric and biochemical
characteristics of tomatoes**

Кравченко Д.В., Джатдоева С.А., Лунева В.Е.*

Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы
биотехнологии Российской академии наук»,
Москва, Россия

**e-mail: dima1826@yandex.ru, тел. +7 909 9450956*

Характеристики искусственного света, подаваемого на томат при выращивании в вертикальной ферме стеллажного типа с управляемым LED-освещением влияют на реакцию урожая плодов в течение круглогодичного сельскохозяйственного цикла. Протокол эксперимента был основан на факторной комбинации двух спектров искусственного света, подаваемых растениям (спектр, состоящий из синего 450 нм, красного 660 нм с темно-розовым 400-800 нм в качестве фона и белого света 4000 К в качестве контроля) и двух раннеспелых гибридов томатов (Сигнум F1 и Метеор F1). Использование сине-красных светоизлучающих диодов (LED) с постепенным увеличением красной составляющей на двух гибридах томатов в фазе вегетации привело к значительному увеличению общей урожайности в 1,61-1,75 раза по сравнению с контрольными растениями, получающими белый свет. Преимущественное применение синего светодиода на ранних этапах развития растений приводило к уменьшению высоты растений в 1,2-1,5 раза. Выбранная технология динамики синего/красного света привела к увеличению содержания хлорофилла и каротина в листьях томатов в 1,41-1,46 раза и в 1,29-1,37 раза соответственно. Вариации синего/красного света оказали значительное положительное влияние на накопление каротиноидов в плодах, увеличившись в 1,29-1,37 раза по сравнению с контрольными растениями. Увеличение содержания моносахаридов в плодах в результате применения сине-красного цвета и тенденция к увеличению синтеза органических кислот привели к получению плодов томата с высоким вкусовым индексом и пищевой ценностью, что открывает интересные перспективы использования этой новой технологии.

**СВЕТ И ХЛОРОФИЛЛ:
ВАЖНЕЙШИЕ ВЕХИ В ИСТОРИИ РАННИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Красновский мл. А.А.

Федеральный исследовательский центр биотехнологии, Институт биохимии им. А.Н. Баха Российской Академии наук, Москва, Россия

e-mail: phoal@mail.ru

Доклад связан с двумя недавними юбилейными датами – 250 лет с момента открытия фотосинтеза (2022-2023 гг) и 200 лет открытию хлорофилла (2017 г.). Трудно себе представить, но большую часть своей истории человечество не подозревало о существовании фотосинтеза. Первая информация появилась 250 лет назад, а реальное понимание сущности процесса пришло лишь в второй половине XX столетия. Одновременно человечество узнало о дыхании, кислороде и прямом влиянии космоса в виде солнечной энергии на биосферу. Таким образом, свет и хлорофилл – это ключевые слова, определяющие специфику процесса. В докладе я хотел бы представить главные эксперименты и ключевых исследователей, которые их осуществили, в исторической ретроспективе начиная от открытия фотосинтеза, как светозависимого процесса очищения воздуха, на базе наблюдений Гейлса, Ломоносова, Пристли, Шееле и Лавуазье. Вслед за выделением хлорофилла Пельтье и Кавенту, последовал анализ его состава Берцелиусом, Фреми, Саксом, Стоксом, Тимирязевым, завершенный в работах Цвета. Тимирязев первым доказал, что именно хлорофилл и его красная полоса сенсibiliзирует фотосинтез в наибольшей степени. Спустя 8 лет Энгельманн в Германии совершенно неожиданным способом подтвердил правоту Тимирязева, но это привело к исключительно эмоциональной непримиримой дискуссии. Далее предполагается рассмотреть современные представления о фотофизике молекул хлорофилла, генерации им синглетного кислорода, доказательства способности хлорофилла фотосенсибилизировать реакции переноса электрона, а также вопрос о спектроскопии и состоянии молекул хлорофилла в фотосинтезирующих клетках. На мой взгляд, именно решение последней проблемы привело к смещению акцентов в современных исследованиях от изучения хлорофилла к изучению пигмент белковых и пигмент-пигментных комплексов, а также более крупных структурных образований, которое требует другой методологии и технической базы.

**ПЕРОКСИРЕДОКСИН 6 МОДУЛИРУЕТ ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС И
МИТОХОНДРИАЛЬНУЮ ДИНАМИКУ В КЛЕТОЧНЫХ
МОДЕЛЯХ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА**

**Peroxyredoxin 6 modulates oxidative stress and mitochondrial dynamics in
cellular models of Parkinson's disease**

*Крицкая К.А. *, Федотова Е.И., Шаранов М.Г., Бережнов А.В.*

Институт биофизики клетки Российской академии наук – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»,
Пушино, Россия

**e-mail: kritskayak96@yandex.ru, тел. +7 928 8818974*

Пероксиредоксин 6 (Prx6) – антиоксидантный фермент с двойной активностью пероксидазы и Ca^{2+} -независимой фосфолипазы A2. Несмотря на потенциальную терапевтическую роль, механизмы действия Prx6 на митохондриальную динамику и митофагию остаются малоизученными. Мы исследовали влияние экзогенного Prx6 на эти процессы в клеточных моделях болезни Паркинсона (БП). Использовались фибробласты донора с мутацией гена PINK1 (p.Try90Leufsx12) и фибробласты условно здорового донора. Методами широкопольной флуоресцентной и конфокальной микроскопии оценивались: продукция активных форм кислорода (АФК), выживаемость клеток, уровень митофагии и экспрессия генов, связанных с митохондриальной динамикой при воздействии Prx6 (150 мкг/мл, 24 часа) и H_2O_2 -индуцированном окислительном стрессе (150 мкМ, 1,5 часа). Для оценки уровня митофагии был разработан способ количественного анализа степени колокализации митохондрий и лизосом, основанный на применении селективных флуоресцентных зондов. В фибробластах PINK1 базальная продукция АФК была выше, чем в контроле.) Инкубация с Prx6 снижала H_2O_2 -индуцированную продукцию АФК в обоих типах клеток до базального уровня. Prx6 значительно повышал выживаемость фибробластов при окислительном стрессе, особенно в клетках PINK1 (с $26,5 \pm 6\%$ до $78 \pm 14\%$). Также инкубация с Prx6 увеличивала базальный уровень митофагии в 2,3-2,5 раза в обоих типах фибробластов. В клетках нейробластомы Prx6 повышал экспрессию генов аутофагии/митофагии (Lc3, Ulk1, Beclin1, Parkin, Vnir3, Nix) и генов слияния митохондрий (Opa1, Mfn1, Mfn2). При сочетанном действии Prx6 и H_2O_2 наблюдалось повышение экспрессии генов слияния митохондрий

(Opa1, Mfn1) и снижение экспрессии гена деления Drrp1 по сравнению с действием только H_2O_2 . Ptx6 оказывает защитное действие при окислительном стрессе, модулируя продукцию АФК, митофагию и экспрессию генов митохондриальной динамики. Эффекты зависят от генетического фона клеток. Инкубация с Ptx6 снижает стресс-индуцированную фрагментацию митохондрий, что может способствовать восстановлению их функциональности. Полученные данные указывают на потенциальную терапевтическую роль Ptx6 при заболеваниях, связанных с митохондриальной дисфункцией, таких как болезнь Паркинсона.

Работа выполнена в рамках госзадания 075-01512-22-03 по теме: «Нейропротекторные препараты нового поколения» № 1022080100047-5-1.6.4.

**МОНИТОРИНГ ОПТИЧЕСКОГО ПРОСВЕТЛЕНИЯ БИОТКАНИ
ПРИ ПОМОЩИ СМАРТФОНА**

Monitoring of optical clearing of biological tissue using a smartphone

Лецев В.К.^{1}, Тучин В.В.^{1,2,3}*

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

²Лаборатория лазерной молекулярной визуализации и машинного обучения, Национальный исследовательский томский государственный университет, Томск, Россия

³Лаборатория лазерной диагностики технических и живых систем, Институт проблем точной механики и управления ФНЦ «Саратовский научный центр РАН», Саратов, Россия

**e-mail: slava.leshev2016@yandex.ru, тел. +79020493465*

Оптическое просветление биоткани используется в различных областях биомедицинских исследований и медицинской диагностики [1]. Этот метод позволяет значительно улучшить видимость внутренних структур ткани, что важно для таких применений, как оптическая когерентная томография, флуоресцентная микроскопия и биопсия. Оптическое просветление снижает рассеяние света в биологических тканях, что способствует повышению контраста изображений и глубины зондирования ткани. Это особенно перспективно для неинвазивных диагностических процедур, поскольку потенциально позволяет получать высококачественные изображения без необходимости хирургического вмешательства.

Использование камеры смартфона как детектора в таких экспериментах является инновационным и перспективным направлением. Современные смартфоны оснащены высококачественными камерами с высоким разрешением и чувствительностью, что делает их доступным и удобным инструментом для научных исследований [2, 3]. Кроме того, встроенные функции смартфонов, такие как обработка изображений и передача данных, предоставляют дополнительные преимущества для анализа и обмена результатами исследований.

Целью настоящих исследований является разработка замкнутой технологии визуализации биологической ткани (кожи добровольцев) при оптическом просветлении с использованием смартфона в качестве интеллектуального детектора с установленным на нем поляризационным объективом.

Эксперимент проводился в изолированном от внешнего освещения помещении, на осветителе была установлен поляризационный фильтр. Во время проведения эксперимента динамика изменения оптических параметров биоткани под действием ОПА фиксировалась на камеру смартфона с интервалом в 1 минуту.

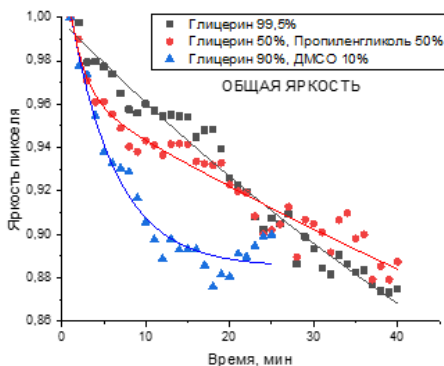


Рис. 1. Кинетические кривые зависимости яркости пикселей от времени, поляризаторы в скрещенном положении.

Как видно из рисунка 1, общая яркость пикселей в области воздействия ОПА падает с течением времени. Раствор глицерин ДМСО оказался самым эффективным из представленных, так как на 20 минуте наблюдается пик просветления, что соответствует минимуму яркости.

В целом, результаты исследования демонстрируют, что смартфон-детектор является эффективным инструментом для исследования оптических свойств биотканей *in vivo*, в том числе их оптического просветления, предлагая недорогую и портативную альтернативу традиционным лабораторным методам.

Литература.

1. В.В. Тучин, Оптика биологических тканей. Методы рассеяния света в медицинской диагностике, 2-е издание, Физматлит, 2012, 811 с.
2. Dhankhar, D., Nagpal, Anushka, Rentzepis, Peter. (2021). Cell-phone camera Raman spectrometer. Review of Scientific Instruments. 92. 054101.
3. Edwards, P., Zhang, C., Zhang, Baigang, Hong, Xiangqian, Nagarajan, Vivek Krishna & Yu, Bing & Liu, Zhiwen. (2017). Smartphone based optical spectrometer for diffusive reflectance spectroscopic measurement of hemoglobin. Scientific Reports. 7(1), P. 1-7.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ДОЛИ ДАЛЬНОГО КРАСНОГО СВЕТА (730 НМ) В СПЕКТРЕ ОСВЕЩЕНИЯ НА РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ

Studying the influence of part of the far-red light (730 nm) in the total lighting spectrum on plant development

Лусина Т.Н.^{1}, Щербёнок С.В.^{1,3}, Четина О.А.², Елохова Е.А.²*

¹«Пермский НИИСХ» – филиал Пермского федерального научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Пермь, Россия

²Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

³Пермский государственный аграрно-технологический университет имени академика Д.Н. Прянишникова, Пермь, Россия

**e-mail: Atea2@yandex.ru, тел. +7 342 2977070*

Свет является необходимым и регулирующим фактором для развития растений. Спектральный состав света в ряду других характеристик освещения играет важную информационную и энергетическую роль. Дальний красный свет – это световые волны на границе спектра видимого света (700 до 780 нм). Фотоны дальнего красного цвета взаимодействуют с фотонами красного света, повышая эффективность фотосинтеза [1]. Дальний красный свет может увеличивать способность растений улавливать свет, повышать скорость переноса фотосинтетических электронов, увеличивать биомассу растений [2].

В Пермском научно-исследовательском институте сельского хозяйства сконструирован фитотрон для проведения экспериментальных работ [3]. Фитотрон имеет несколько секторов, которые отличаются разным соотношением красного и дальнего красного света. В результате проведенных исследований получены экспериментальные данные по нескольким видам растений, имеющих сельскохозяйственное значение. Выявлены достоверные отличия растений огурца (*Cucumis sativus* L.), выращенных при добавочном освещении дальним красным светом, по сравнению с контролем по длине междоузлий [4]. Показано, что снижение соотношения красного и дальнего красного света в освещении приводит к удлинению растений кресс-салата (*Lepidium sativum* L.) [5]. Обнаружено, что добавочное освещение дальним красным светом на стадии *in vitro* приводит к увеличению количества междоузлий у некоторых сортов картофеля (*Solanum tuberosum*), что является ценным качеством, так как увеличивает коэффициент размножения при черенковании.

Исследования воздействия дальнего красного света на физиологию и фотосинтетическую способность растений интересны для сельскохозяйственного производства. Важно оценить перспективы использования дальнего красного света для повышения урожайности сельскохозяйственных культур.

Работа выполнена в рамках государственного задания, номер государственной регистрации НИОКТР 122031100058-3.

Литература.

1. Tingting Tan, Shenglan Li, Yuanfang Fan et al. Far-red light: A regulator of plant morphology and photosynthetic capacity, *The Crop Journal*, Volume 10, Issue 2, Pages 300-309, ISSN 2214-5141, (2022).
2. Lee M.J., Park S.Y., Oh M.M., Growth and cell division of lettuce plants under various ratios of red to far-red light-emitting diodes, *Hortic. Environ. Biote.*, 56, pp. 186-194 (2015).
3. Лисина Т.Н., Шолгин Е.С., Бурдышева О.В., Ременникова М.В. Разработка гроубокса для изучения влияния дальнего красного света на растения. Спецвыпуск «Фотон-экспресс-наука 2023» №6, 2023. – с. 27-28.
4. Лисина Т.Н., Четина О.А., Бурдышева О.В., Шолгин Е.С. Изучение влияния дальнего красного света на рост рассады огурца *Cucumis sativus* L. сорта Кураж Прикладная фотоника. – 2023. – № 6.
5. Lisina T. N., Chetina O. A., Parfenkova V. A., Burdysheva O. V., Sholgin E. S. The Ratio of Red to Far-Red Light Affects Growth, Pigment Content, and Photosynthetic Rates in Cress Plants, *Russian Journal of Plant Physiology*, 2024, Vol. 71:27.

**ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ОПТИЧЕСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ
МОНИТОРИНГА СЕМЯН СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР НА ПРЕДМЕТ
ИХ ЗАРАЖЕНИЯ ПАТОГЕНАМИ**

**Application of optical spectroscopy techniques to monitor crop seeds
for pathogen contamination**

Матвеева Т.А., Саримов Р.М., Гудков С.В.*

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Федеральный исследовательский центр «Институт общей физики
им. А.М. Прохорова Российской академии наук», Москва, Россия

*e-mail: matveevata@kapella.gpi.ru, тел. +7 950 6760490

Быстрый, простой и недорогой способ мониторинга болезней растений на ранних стадиях является актуальной и важной проблемой продовольственной безопасности. Этим требованиям отвечают различные оптические, главным образом, спектральные методы, которые постепенно внедряются в сельское хозяйство [1]. Методы, основанные на явлении флуоресценции, широко применяются для исследования биологических образцов и, в частности, для обнаружения пораженных патогенами плодов сельскохозяйственных культур [2].

Первая часть доклада посвящена использованию флуоресцентной спектроскопии для описания и сравнения здоровых и зараженных грибковыми патогенами зерен пшеницы. Цель работы – определить характерные признаки, параметры и длины волн для различения здоровых и зараженных зерен на ранней стадии инфекции и разных типов инфекции с помощью данного метода. Матрицы возбуждения-излучения цельного зерна пшеницы получали с помощью флуоресцентного спектрометра Jasco FP-8300.

Образцы включали контрольные здоровые образцы и зерна, искусственно инфицированные грибами *Fusarium graminearum* и *Alternaria alternata*. Пять характерных спектральных областей были выделены путем анализа расположения пиков на картах флуоресценции. Области с центрами $\lambda_{em}=328/\lambda_{ex}=278$ нм и $\lambda_{em}=480/\lambda_{ex}=400$ нм показали наибольшие различия в спектрах инфицированных и неинфицированных образцов. Сдвиг пиков эмиссии с 444 нм на 452 нм был зафиксирован уже через 2-3 часа после заражения. Полученные результаты свидетельствуют о том, что флуоресцентная спектроскопия является перспективным методом ранней диагностики грибных заболеваний зерновых культур.

Для предотвращения инфицирования семенного материала применяются различные способы протравливания, в том числе такие, как обработка семян активированными плазмой растворами. Во второй части доклада рассмотрено применение методов флуоресцентной и колебательной, комбинационного рассеяния и ИК с преобразованием Фурье, спектроскопии для оценки эффективности обеззараживания семян хлопчатника активированными плазмой растворами [3].

Литература.

1. Gudkov S., Matveeva T., Sarimov R., Simakin A., Stepanova E., Moskovskiy M., Dorokhov A., Izmailov A., Optical Methods for the Detection of Plant Pathogens and Diseases, Agriengineering, 5(4), pp. 1789-1812, (2023)
2. Matveyeva T., Sarimov R., Simakin A., Astashev M., Burmistrov D., Lednev V., Sdvizhenskii P., Grishin M., Pershin S., Chilingaryan N., Semenova N., Dorokhov A., S. Gudkov, Using Fluorescence Spectroscopy to Detect Rot in Fruit and Vegetable Crops, Applied Sciences, 12, pp. 3391, (2022)
3. Ashurov M., Ashurov E., Astashev M., Baimler I., Gudkov S., Konchekov E., Lednev V., Lukina N., Matveeva T., Markendudis A., Onegov A., Rashidova D., Sarimov R., Sergeichev K., Sharipov S., Simakin A., Yanykin D., Shcherbakov I., Development of an Environmentally Friendly Technology for the Treatment of Aqueous Solutions with High-Purity Plasma for the Cultivation of Cotton, Wheat and Strawberries, ChemEngineering, 6 (6), pp. 91, (2023).

Влияния РАЗМЕРА АНТИСТОКСОВЫХ НАНОФОСФОРОВ (НАФ) НА ИЗБИРАТЕЛЬНОСТЬ НАКОПЛЕНИЯ ВО ФЛУОРЕСЦИРУЮЩЕЙ ОПУХОЛЕВОЙ МОДЕЛИ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЯИЧНИКА ЧЕЛОВЕКА

The influence of the size of anti-stokes nanophosphors on accumulation and redistribution in human ovarian adenocarcinoma

Минцев Д.М., Иудина В.Д., Жарова П.М., Баушева Д.К., Крылова Л.В.,
Гурьев Е.Л., Балалаева И.В., Шилигина Н.Ю.*

Университет Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

*e-mail: daniilmintsev2015@mail.ru, тел. +7 961 3509999

Одно из наиболее перспективных направлений для лечения внутрибрюшинных опухолей, включая рак яичника человека – это перитонеальное введение противоопухолевых препаратов. В роли перспективных систем для внутрибрюшинной доставки выступают наночастицы, позволяя осуществлять целенаправленную и быструю доставку лекарственных средств (ЛС) непосредственно в опухоль, что минимизирует побочные эффекты и уменьшает необходимую дозу ЛС.

Антистоксовые нанофосфоры (НАФ) – это нанокристаллы из неорганической матрицы с составом $\text{NaY}_{0,794}\text{Yb}_{0,2}\text{Tm}_{0,006}\text{F}_4/\text{NaYF}_4$, легированные ионами иттербия и тулия. Они являются перспективной платформой для эффективной доставки ЛС.

Цель работы - анализ влияния размера НАФ на селективность накопления в опухолевых узлах и их перераспределения в тканях организма.

В работе были исследованы два типа частиц разного размера: НАФ-СМАОД-ПЭГ ($108,1 \pm 3,5$ нм) и НАФ-ПЛГА-ПЭГ (750 ± 130 нм). Опухолевая модель – клеточная линия аденокарциномы яичника человека SKOV-ip-kat, которая экспрессирует флуоресцентный белок TurboFP635 (Katushka). Мониторинг роста опухолевых очагов проводился методом поверхностного флуоресцентного имиджинга. Мониторинг перераспределения частиц - методом поверхностного люминесцентного имиджинга. Для анализа содержания комплексов извлекали следующие органы и ткани: опухоль, кишечник, брюшина, сердце, кожа, скелетная мышца, легкие, селезенка, печень, почки. Исследование перераспределения комплексов проводили методом лазерной сканирующей флуоресцентной конфокальной микроскопии и масс-спектрометрии. Интенсивность флуоресцентного сигнала белка Katushka и люминесценции частиц определяли в программе ImageJ.

Нами установлено, что через 72 часа после введения НАФ наблюдалась высокая солокализация флуоресцентного сигнала белка Katushka опухоли и люминесцентного сигнала НАФ-СМАОД-ПЭГ. Это свидетельствует об избирательном накоплении наночастиц с диаметром ~100 нм в опухолевых узлах. В остальных органах и тканях накопления частиц не наблюдалось. Подобное поведение частиц может быть связано с перитонеальными клетками, фагоцитирующими НАФ, после внутрибрюшинного введения. Подобного эффекта не наблюдалось у частиц с размером ~750 нм.

Полученные в ходе исследования результаты позволяют судить о прикладном значении НАФ для целенаправленной доставки лекарственных средств в опухолевую ткань и перспективности в области перитонеальной противоопухолевой терапии.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ, соглашение № 075-15-2022-293 от 15.04.2022 г (проект о создании и развитии научного центра мирового уровня «Центр фотоники»).

**СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К АНАЛИЗУ БОЛЬШИХ МАССИВОВ
СПЕКТРАЛЬНЫХ ДАННЫХ МЕТОДАМИ ХЕМОМЕТРИКИ
И МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ**

Надточенко В.А.^{1,2,3}

¹Федеральный исследовательский центр химической физики
им. Н.Н. Семенова РАН,

²Московский Физико-Технический Институт (Университет),

³Химический факультет Московского Государственного Университета
им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

e-mail: nadtochenko@gmail.com

Методы анализа больших массивов спектральных данных на основе искусственного интеллекта (ИИ), такие как хемометрика, машинное обучение, являются многообещающими инструментами, которые дают более ясное и лучшее понимание данных. С помощью этих инструментов данные могут быть использованы в полной мере, а полученные знания о процессах, взаимодействиях и характеристиках образца максимизируются. Методы на основе ИИ использовались для анализа химических данных с 1970-х годов. В данном докладе сообщается о протоколах анализа спектральных данных, полученных методами Рамановской спектроскопии-микроскопии и Фурье-ИК спектроскопии-микроскопии при исследовании сложных по составу и структуре образцов в том числе и биологического происхождения. Также в докладе представлены подходы к анализу больших массивов спектральных данных, полученных методами фемтосекундной лазерной спектроскопии.

ОПТОАКУСТИЧЕСКАЯ МИКРОСКОПИЯ ДЛЯ *IN VIVO* ИССЛЕДОВАНИЯ СТРУКТУРЫ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ

Optoacoustic microscopy for *in vivo* investigation of blood vessel structure

Орлова А.Г.^{1}, Ахмеджанова К.Г.^{1,2}, Курников А.А.¹, Глявина А.М.^{1,2}, Хоченков Д.А.³, Хоченкова Ю.А.³, Масленникова А.В.^{1,2,4}, Немирова С.В.^{1,4}, Турчин И.В.¹, Субочев П.В.¹*

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики им. А.В. Гапонова-Грехова Российской академии наук»,
Нижний Новгород, Россия

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»,
Нижний Новгород, Россия

³Федеральное государственное бюджетное учреждение Министерства здравоохранения Российской Федерации Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина, Москва, Россия

⁴Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Нижний Новгород, Россия

**e-mail: anna@ipfran.ru, тел. +7 831 4164804*

Метод оптоакустической (ОА) визуализации основан на регистрации ультразвуковых волн, генерируемых при поглощении импульсного лазерного излучения оптическими хромофорами. Визуализация сосудов обеспечивается без использования дополнительного контрастирования тканей на глубинах оптического проникновения излучения с ультразвуковым разрешением [1-2]. Современными областями применения ОА являются клиническая диагностика патологий поверхностных сосудов и исследование структуры сосудистой сети на доклинических моделях заболеваний. В настоящей работе метод ОА был использован для изучения циркуляторного русла экспериментальных опухолей, а также кожи человека в норме и при ангиопатиях.

ОА проводили с использованием сканирующей системы с отражательной конфигурацией, укомплектованной импульсным лазером с длиной волны 532 нм и широкополосным детектором на основе ПВДФ

(ИИФ РАН, Нижний Новгород). Данная система позволяет визуализировать кровеносные сосуды диаметром до 50 мкм на глубинах до 2.1 мм. Сравнение экспериментальных опухолей различного морфогенеза продемонстрировало возможности ОА по определению таких опухоль-специфичных параметров сосудистой сети, как размер сосудов и их плотность [3]. В ответ на лучевую терапию выявлено временное снижение плотности мелких сосудов, тогда как для крупных сосудов наблюдалась противоположная реакция. Характер изменений сосудов опухоли при облучении зависел как от размера сосуда, так и от дозы облучения [4].

При исследовании кожи здоровых добровольцев показаны возможности ОА для визуализации динамических изменений кровенаполнения сосудов в условиях функциональных тестов. Кроме того, при сравнении структуры сосудистого русла стопы пациентов с посттромботическим синдромом и здоровых добровольцев выявлено увеличение значений таких параметров как объем крови, диаметр и извитость сосудов [5-6].

Таким образом, продемонстрированы возможности ОА для анализа структуры нормальных и патологических сосудов человека *in vivo*, а также для мониторинга ангиогенеза экспериментальных злокачественных новообразований в ходе роста и на фоне действия терапии.

Работы выполнены при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ по проекту ИЦМУ «Центр фотоники» (No. 075-15-2022-316).

Литература.

1. Wang L, Hu S (2012) Science. 335(6075). 1458-1462.
2. Deán-Ben X, Gottschalk S, Mc Larney B, Shoham S, Razansky D (2017) Chemical Society Reviews 46(8). 2158-2198.
3. Akhmedzhanova K, Kurnikov A, Khochenkov D, Khochenkova Ju, Glyavina A, Kazakov V, Yudinsev A, Maslennikova A, Turchin I, Subochev P, Orlova A (2022) BOE. 13(11). 5695-5708.
4. Orlova A, Pavlova K, Kurnikov A, Maslennikova A, Myagcheva M, Zakharov E, Skamnitskiy D, Perekatova V, Khilov A, Kovalchuk A, Moiseev A, Turchin I, Razansky D, Subochev P (2022) Neoplasia. 26. 100778.
5. Subochev P, Orlova A, Smolina E, Kirillov A, Shakhova N, Turchin I (2018) Laser Physics Letters. 15 (4). 045602.
6. Nemirova S, Orlova A, Kurnikov A, Litvinova Y, Kazakov V, Ayyvazyan I, Liu Y, Razansky D, Subochev P (2024) Photoacoustics. 7(38). 100616.

ДИАГНОСТИКА ПАТОЛОГИЙ ЭНДОМЕТРИЯ МЕТОДОМ КРОСС-ПОЛЯРИЗАЦИОННОЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ

Diagnosis of endometrial pathologies using Cross-Polarization Optical Coherence Tomography

Плеханов А.А.^{1}, Логинова М.М.¹, Аветисян Е.А.², Моисеев А.А.³,
Шепелева А.А.², Анина А.А.^{1,4}, Гамаюнов С.В.², Геликонов Г.В.³,
Гречканев Г.О.¹, Сироткина М.А.¹, Гладкова Н.Д.¹*

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород, Россия

²Государственное автономное учреждение здравоохранения Нижегородской области «Научно-исследовательский институт клинической онкологии «Нижегородский областной клинический онкологический диспансер», Нижний Новгород, Россия

³Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики им. А.В. Гапонова-Грехова Российской академии наук», Нижний Новгород, Россия

⁴Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия

**e-mail: strike_gorl@mail.ru, тел. +7 910 3841801*

Эндометрий – это эпителиальный слой, выстилающий внутреннюю полость матки. Одной из его основных функций является обеспечение имплантации бластоцисты в матке [1]. Патологии ткани эндометрия могут иметь серьезные последствия – от нарушения репродуктивной функции до повышения риска развития рака. Одной из наиболее часто диагностируемых патологий является гиперплазия эндометрия, которая считается предшественником рака [2]. В свою очередь, рак эндометрия представляет собой наиболее распространенное злокачественное новообразование женской репродуктивной системы. Стоит отметить, что большинство патологий эндометрия (и даже рак) имеют благоприятный прогноз с возможностью сохранения репродуктивной функции за счет своевременной первичной диагностики и оптимальной стратегии лечения на ранних стадиях заболевания [3].

На данный момент общепринятая и надежная диагностика патологий эндометрия предполагает высокотравматичные процедуры

сбора материала (пайпель-биопсию/раздельное диагностическое выскабливание матки) для проведения гистологического исследования. В последнее время биопсию эндометрия под контролем гистероскопии все чаще выбирают для снижения травматичности и повышения точности диагностики патологий ткани эндометрия. Однако нередко неоднозначность визуальной гистероскопической оценки и неверный выбор подозрительного участка эндометрия для последующего гистологического исследования приводят к ложному диагнозу и недооценке рака эндометрия [4]. Поэтому существует потребность в новом диагностическом инструменте высокоточной и малоинвазивной морфологической оценки ткани эндометрия.

Представленное исследование направлено на выявление возможностей кросс-поляризационной оптической когерентной томографии (КП ОКТ) в диагностике патологий ткани эндометрия. Недавние пилотные исследования коллег продемонстрировали высокие перспективы выявления патологий эндометрия по характерным качественным различиям в оптических свойствах, установленным методом ОКТ [5]. Наши исследования направлены на определение возможности дифференциации морфологических структур ткани матки в норме (эндометрий и миометрий) и при патологии (гиперплазия эндометрия, аденомиоз и рак) путем изучения поляризационных свойств ткани, установленных методом КП ОКТ [6]. Кроме того, для количественного анализа данных КП ОКТ и выявления критериев дифференциации различных морфологических структур был произведён расчёт оригинального коэффициента затухания сигнала по глубине (описанного ранее [7]). Полученные результаты свидетельствуют о возможности выявления патологий ткани эндометрия с помощью КП ОКТ и актуальности дальнейшего развития технологии для нетравмирующей диагностики и мониторинга эффективности лечения заболеваний эндометрия.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-00405.

Литература.

1. Owusu-Akyaw A, et al (2019) Human reproduction update, 25(1), 114–133.
2. Nees LK, et al (2022) Archives of gynecology and obstetrics, 306(2), 407–421.
3. Shen Y, et al (2023) Molecular cancer, 22(1), 53.
4. Garuti G, et al (2023) Archives of gynecology and obstetrics, 308(3), 971–979.
5. Ding B, et al (2022) BMC medical imaging, 22(1), 162.
6. Yashin KS, et al (2019) Frontiers in oncology, 9, 201.
7. Moiseev A, et al (2023) Journal of biophotonics, 16(12), e202100392.

ДЕНДРИТНОКЛЕТОЧНАЯ ВАКЦИНА, НА БАЗЕ ФОТОИНДУЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК ГЛИОМЫ GL261 – НОВЫЙ ЭФФЕКТИВНЫЙ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ АГЕНТ ПРОТИВ ОПУХОЛИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Dendritic cell vaccine based on photo-induced glioma cells GL261 is a new effective therapeutic agent against brain tumors

Редькин Т.С.^{1}, Слепцова Е.Е.¹, Хузина А.Р.¹, Савюк М.О.^{1,2},
Турубанова В.Д.¹, Крысько Д.В.^{2,3}*

¹НИИ Нейронаук, ННГУ им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Россия

²Лаборатория исследования и терапии гибели клеток (CDIT), факультет анатомии и реабилитации человека, Гентский университет, Гент, Бельгия

³Институт исследований рака, Гент, Бельгия

**e-mail: big.t.nsdav@outlook.com, тел. +7 906 5641593*

Глиомы – самые агрессивные злокачественные опухоли головного мозга. Выживаемость пациентов после постановки диагноза варьирует в промежутке 12-18 месяцев. В настоящее время клинически одобренные – традиционные методы терапии малоэффективны или высокотоксичны. Борьба с глиомой требует поиска и внедрения новых методов, и одним из них может стать - иммунотерапия с применением дендритных клеток. Кроме того, использование подходов, основанных на концепции иммуногенной клеточной смерти (ICD) может значительно увеличить эффективность предлагаемых методов экспериментальной терапии. Фотодинамическая терапия признана одним из эффективных индукторов ICD.

Ранее были показаны иммуногенность клеточной смерти клеток GL261 при фотовоздействии с применением тетра(арил)тетрацианпорфиразинов *in vitro* и эффективность профилактической дендритноклеточной вакцинации на основе лизатов фотоиндуцированных клеток *in vivo*.

На новом этапе исследования целью стала разработка терапевтического подхода с применением той же дендритноклеточной вакцины *in vivo*.

Клеточная линия глиобластомы мыши GL261 культивировалась в полной культуральной среде DMEM. Для фотоиндукции использовался фотосенсибилизатор из группы тетра(арил)тетрацианпорфиразинов с диэтил-N-фенилом в качестве бокового заместителя (**pz IV**). Клетки глиомы инкубировались в течение 4 часов с раствором выбранного

фотосенсебилизатора, после чего они подвергались фотоиндукции. Спустя сутки клетки собирались и подвергались 6 циклам заморозки/оттаивания для получения опухолевых лизатов. Дендритные клетки, полученные из красного костного мозга мышей линии C57BL/6J, сокультивировались с вышеописанными лизатами и дополнительно стимулировались липополисахаридом (ЛПС) для получения терапевтического агента. На стереотаксической установке в головной мозг мыши вводились жизнеспособные клетки глиомы, и после производилась иммунизация активированными дендритными клетками на 2-ой, 9-ый и 17-ый дни после инокуляции.

Проводимая терапия позволила достоверно увеличить выживаемость животных в экспериментальной группе при менее выраженных неврологических проявлениях.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-75-10060, <https://rscf.ru/project/24-75-10060/>.

**РАЗРАБОТКА МЕТОДА И ВИДЕОФЛУОРЕСЦЕНТНОГО УСТРОЙСТВА ДЛЯ
КОНТРОЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ИНАКТИВАЦИИ ПАТОГЕННОЙ
МИКРОФЛОРЫ С ПОМОЩЬЮ НАНОФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ**

**Development of a method and a video fluorescent device for monitoring
photodynamic inactivation of pathogenic microflora using nanophotosensitizers**

Рошин И.А.^{1}, Уденеев А.М.^{1,2}, Бородкин А.В.²,
Москалев А.С.², Калягина Н.А.^{1,2}*

¹Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»,
Москва, Россия

²Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук,
Москва, Россия

**e-mail: Bloreo@yandex.ru, тел. +7 913 2139968*

Флуоресцентная визуализация активно применяется в биомедицине, особенно в контексте фотодинамической терапии (ФДТ), что представляет собой новаторский подход к лечению разнообразных заболеваний, включая онкологические. Этот метод основывается на введении в организм фотосенсибилизатора (ФС), который предпочтительно скапливается в поражённых тканях. Данные ткани имеют усиленную микроциркуляцию, что способствует локализации ФС. При облучении зоны скопления ФС светом в диапазоне его поглощения, происходит активация ФС и запуску фотохимических реакций с образованием высокоактивного синглетного кислорода, приводящего к гибели патологических клеток. Важно, что многие ФС обладают флуоресцентными свойствами, позволяя использовать методы флуоресцентной визуализации для контроля и планирования процесса ФДТ.

Был разработан метод и видеофлуоресцентное устройство для контроля фотодинамической инактивации патогенной микрофлоры, применяемых в диагностике и лечении ран, в том числе, длительно незаживающих. Изучены оптические свойства флуоресцентных ответов от препаратов в молекулярной и наноформе; синтез наноформ хлорина е6 и метиленового синего; подобраны оптимальные концентрации ФС к конкретным фильтрам; проанализированы базы данных для оценки времени выгорания МС в результате длительного воздействия излучения.

При разработке видеофлуоресцентного устройства контроля проведения ФДТ (рис. 1) создана 3D-модель устройства, с учетом требований к его мобильному использованию в клинических условиях; в

корпус прототипа устройства интегрирована система фиксации и смены оптических фильтров; подобраны компоненты оптической системы (камера, фильтры), в соответствии с длинами волн излучения используемых ФС; скоррелированы показания портативного измерителя мощности со стационарным.

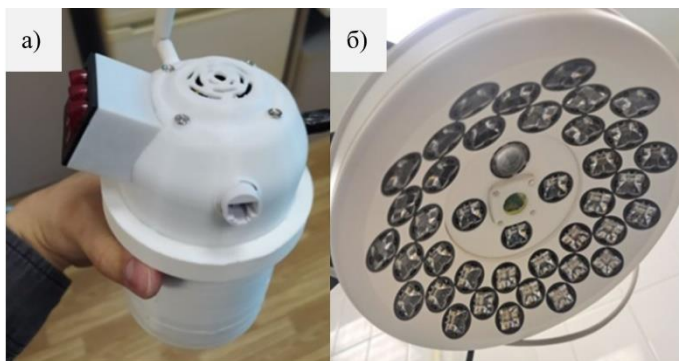


Рис. 1. Устройство контроля ФДТ: а) прототип устройства; б) прототип устройства, размещенное в центре терапевтической лампы, с двумя закрепленными фильтрами.

Разработанный метод контроля фотодинамической инактивации патогенной микрофлоры, применяемый в диагностике длительно незаживающих ран позволяет проводить анализ распределения ФС хлоринового ряда и метиленового синего, в том числе, в наноформах, в воспалительных тканях и некрозах и корректировать режим воздействия, при назначении процедуры ФДТ, с использованием ФС хлоринового ряда и МС. Это дает возможность точно настраивать параметры воздействия при назначении ФДТ с использованием указанных ФС и способствует улучшению результатов лечения при ФДТ. Созданный прототип видеофлуоресцентного устройства для контроля результатов проведения ФДТ обладает необходимыми техническими характеристиками и функциональными компонентами, при этом его стоимость (12 000 руб.) значительно ниже, чем у существующих на рынке аналогов (например, УФФ-630/675-01-БИОСПЕК стоимостью 2 067 195 руб.). Произведенная оптимизация и снижение цены прототипа позволяют рассмотреть возможность его широкого распространения и использования в медицинских учреждениях для контроля процесса ФДТ.

ВЛИЯНИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО УФ ОБЛУЧЕНИЯ НА РОСТ, РАЗВИТИЕ И НАКОПЛЕНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ БАЗИЛИКА ДУШИСТОГО В УСЛОВИЯХ ПОЛНОЙ СВЕТОКУЛЬТУРЫ

The influence of additional UV irradiation on the growth, development and essential oil content of sweet basil in vertical farming

Семенова Н.А.^{1}, Иванцких А.С.², Смирнов А.А.², Уютова Н.И.²*

¹Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный агроинженерный центр ВИМ», Москва, Россия

*e-mail: natalia.86@inbox.ru, тел. +7 926 7830374

Базилик душистый (*Ocimum basilicum* L.) – популярное растение, вкус и аромат которого обусловлены высоким содержанием эфирных масел. На рост растений базилика душистого и содержание эфирного масла в листьях влияют интенсивность и спектральный состав света, температура и уровень орошения [1-3]. Отсутствие УФ диапазона в спектре оптического излучения фитооблучателей в условиях полной светокультуры может привести к снижению вкусовых качеств базилика [4].

Известно, что при отсутствии УФ-В спектра в облучении щитовидные и головчатые трихомы, в которых накапливаются масла, не развиваются, а эфирномасличные мешочки заполняются не полностью. Считается, что УФ облучение не влияет на количество желез и качественный состав компонентов эфирного масла, а влияет только на заполнение железистых трихом базилика [5]. Также установлено, что дополнительное освещение УФ-В светом, вызывая стрессовые реакции, повышает уровень ароматических летучих соединений в листьях [5-6], способствуют синтезу защитных пигментов и фенольных соединений, однако может привести к окислительному повреждению, ингибированию фотосинтеза и, как следствие, снижению роста [7-8].

С целью улучшения вкусовых свойств базилика душистого в условиях гидропоники и полной светокультуры изучалось влияние добавления ультрафиолетового излучения диапазонов УФ-А, УФ-В и УФ-С дополнительно к основному облучению на общее состояние растений, морфологические параметры и содержание эфирного масла в листьях. Наибольший прирост сырой массы (на 55%) и содержания эфирного масла (10 - 30%) всех исследуемых в данной работе сортов базилика был отмечен под непрерывным УФ-В облучением. Присутствие любого УФ-диапазона

облучения было необходимым условием для образования головчатых трихом базилика сорта 'Маркус', в то время как головчатые трихомы у сортов 'Ред Рубин' и 'Гастроном' образовывались и в отсутствие добавочного УФ облучения. Была выявлена корреляция содержания эфирного масла в растении базилика с количеством головчатых трихом и подтвержден их вклад в процесс синтеза масел.

Литература.

1. Ichimura M, Noguchi A, Kimura M (2008) J. Agric. Sci., Tokyo Univ. Agric. 53:91-95
2. Ichimura M, Tomitaka Y, Kimura M (1987) Abstr. Japan. Soc. Hort. Sci. Autumn Meet. – Japan, pp.410-411.
3. Ichimura M, Kimura M, Tomitaka Y (1991) J. Ja-pan. Soc. Hort. Sci. 60(1):338-339.
4. Семенова НА, Чилингарян НО, Иваницких АС, Дорохов АА, Павлова ЕВ, Уютова НИ (2021) Бюллетень Главного ботанического сада 3:25-32.
5. Ioannidis D Bonner L, Johnson CB (2022) Ann Bot. 90(4):453-460.
6. Johnson C.B, Kirby J, Naxakis G, Pearson S (1999) Phytochemistry 51:507-510.
7. Neugart S, Schreiner M (2018) Sci. Hortic. 234:370-381.
8. Proshkin Y, Smirnov A, Semenova N, Dorokhov A, Burynin D, Ivanitskikh A, Panchenko V (2021) Appl. Sci.: Energy Optimization for Agriculture and Agroengineering Systems 11(19), №8804.

ВОЗМОЖНОСТИ УПРАВЛЕНИЯ СВОЙСТВАМИ ЗЕЛЕННЫХ И ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР (НА ПРИМЕРЕ САЛАТА) В УСЛОВИЯХ ЗАЩИЩЕННОГО ГРУНТА

Managing means for the properties of vegetable crops in protected ground conditions

*Семенова Н.А. *, Степанова Е.В., Захаров Д.А.*

Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

**e-mail: natalia.86@inbox.ru, тел. +7 926 7830374*

Листовые овощи – приоритетные объекты для исследований, т.к. их выращивание позволяет получить от 3 до 6 кг/м² биомассы за короткий период. Особое внимание следует уделять поддержанию рациональных параметров светового режима, влияющего на продуктивность растений, а затраты на его поддержание при производстве овощной продукции составляют 30–40% от общих затрат [1].

Салат – наиболее скороспелое овощное растение и в настоящее время является передовой культурой, возделываемой в защищённом грунте. Выбор спектрального состава освещения позволяет управлять качеством растений салата, получать оптимальные показатели эффективности фотосинтеза [2], показана возможность влиять на такие физиологические параметры растений, как устьичная проводимость [3], скорость фотосинтеза и транспирации, межклеточная концентрация CO₂, поглощение нутриентов. Замена облучения синим светом (B) на зеленый (G) и/или дальний красный (FR) запускает реакцию избегания тени и снижение концентрации хлорофилла [4]. Содержание хлорофилла а и b и каротиноидов в салате, значительно увеличивается при соотношении RB (10:1), а антиоксидантная способность – при RB (5:1) [5]. Добавление желтого света приводит к изменению высоты растений салата [6]. Различные световые соотношения спектра по-разному влияют на рост, урожайность, физиологические и химические профили. Проведенные исследования фотозащитных реакций красностигматного салата в условиях низкой освещенности показали положительное влияние УФ-В-облучения на свежую массу, сухую массу, площадь листовой поверхности и содержание антоцианов [7, 8].

В последние годы с распространением и удешевлением LED осветителей происходит настоящая революция, связанная с переходом на полную светокulturу и развитием вертикального фермерства. Управляя количеством и качеством используемого света, в скором времени появится возможность получать продукцию сельскохозяйственных культур с

заданными свойствами под конкретные задачи, создавая ассортимент функционального питания для профилактики различных заболеваний, устранения дефицитов в питании.

Литература.

1. Пономарева НЕ, Грачева НН, Протасов АА (2018) Агротехника и энергообеспечение. № 4 (21).
2. Soufi H, Roosta HR, Fatehi F, Ghorbanpour M (2023) Food Science & Nutrition. 11:1-20.
3. Meng Q, Kelly N, Runkle E (2019) Environmental and experimental botany 162:383-391.
4. Naznin MT, Lefsrud M, Gravel V, Azad MOK (2019) Red Light added with Red LEDs Enhance Growth Characteristics, Pigments Content, and Antioxidant Capacity in Lettuce, Spinach, Kale, Basil, and Sweet Pepper in a Controlled Environment. Plants. Vol.8 (4). №93.
5. Jaya M, Putra S, Sofii I. (2023) Biotropika: Journal of Tropical Biology. 11:38-43.
6. Alrajhi A, Alsahli A, Ibrahim M, Rihan H, Fuller M, Alsadon A, Ibrahim A (2023) Plants. 12(3):463.
7. Smirnov A, Semenova N, Proshkin Y, Ivanitskikh A., Chilingaryan N, Panchenko V (2023) In: Vasant, P., et al. Intelligent Computing and Optimization. ICO 2023. Lecture Notes in Networks and Systems. Vol. 853. Springer, Cham.
8. Basir M, Masri I (2021) AAFJ Vol. 2(2), №a0000229.

ОСОБЕННОСТИ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ ФОТОАГЕНТА И ТИПА КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ИЗ ГРУППЫ ТЕТРА(АРИЛ)ТЕТРАЦИАНОПОРФИРАЗИНОВ С 4-(4-ФТОРБЕНЗИОКСИ)ФЕНИЛОМ В КАЧЕСТВЕ БОКОВОГО ЗАМЕСТИТЕЛЯ НА ПЕРВИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ ГЛИОМЫ ЧЕЛОВЕКА

Features of intracellular localization and type of cell death when using a photosensitizer from the tetra(aryl) group tetracyanoporphyrazines with 4-(4-fluorobenzioxy)phenyl as a side substituent on primary human glioma cell cultures

*Слепцова Е.Е.¹, Хузина А.Р.¹, Пескова Н.Н.², Редькин Т.С.¹,
Лермонтова С.А.³, Савюк М.О.^{1,4}, Клапшина Л.Г.³,
Балалаева И.В.², Турубанова В.Д.¹*

¹НИИ Нейронаук, ННГУ им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Россия

²Институт биологии и биомедицины, ННГУ им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Россия

³Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН,
Нижний Новгород, Россия

⁴Лаборатория исследования и терапии гибели клеток (CDIT), факультет анатомии и реабилитации человека, Гентский университет, Гент, Бельгия

**e-mail ees222@list.ru , тел. +7 919 3365423*

На сегодняшний день глиома является одним из самых злокачественных новообразований центральной нервной системы. При этом не существует эффективного метода терапии глиом. В основе некоторых видов иммунотерапии лежит концепция иммуногенной клеточной смерти. Однако потенциал ее активации еще не изучался на первичных культурах глиомы человека.

В исследованиях на клеточной линии мышинной глиомы была показана эффективность иммуногенной клеточной смерти при фотовоздействии с использованием тетра(арил)тетрацианопорфиразинов.

Для более глубоко понимания процесса клеточной гибели был проведен анализ накопления и локализации фотосенсибилизатора из группы тетра(арил)тетрацианопорфиразинов с 4-(4-фторбензиокси)фенилом в качестве бокового заместителя в клетках глиомы человека. Было показано, что оптимальным временем для накопления порфиразина в клетках трех изучаемых культур является 4 часа. Однако культуры различались по внутриклеточной локализации

фотосенсибилизатора - в одной из культур порфиразин накапливался преимущественно в лизосомах, тогда как в двух других культурах фотоагент был обнаружен в эндоплазматическом ретикулуме.

Локализация фотосенсибилизатора определяет дальнейшие пути реализации клеточной гибели при фотовоздействии, что влияет на дальнейший иммуногенный потенциал клеточной смерти. Для оценки типа клеточной гибели был проведен анализ жизнеспособности с использованием специфичных ингибиторов клеточной смерти и показана клеточная гибели по типу ферроптоза или путем смешанной клеточной гибели - апоптоза и ферроптоза. При этом не было выявлено зависимости между локализацией фотосенсибилизатора и типом клеточной смерти.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-75-10060, <https://rscf.ru/project/24-75-10060/>.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГИПЕРСПЕКТРАЛЬНОЙ КАМЕРЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ПШЕНИЦЫ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

Using a hyperspectral camera to assess wheat health in the laboratory

*Судариков К.А.**

¹Российский государственный аграрный университет –
МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия

²Автономная некоммерческая организация «Институт социально-экономических стратегий и технологий развития», Москва, Россия

**e-mail: sud-kir@yandex.ru, тел. +7 916 4058067*

Использование гиперспектральной камеры для оценки здоровья пшеницы в лабораторных условиях включает несколько этапов, включая настройку системы визуализации, захват изображений, обработку данных и анализ результатов для определения состояния здоровья пшеницы.

Подготовительным этапом является нормализация данных для учета различий в условиях освещения или настройках камеры между изображениями. Нормализация гарантирует, что данные точно отражают свойства самой пшеницы.

После возможно определение признаков в спектральных данных, которые коррелируют с показателями здоровья пшеницы, такими как содержание хлорофилла, содержание воды или уровень питательных веществ. Алгоритмы машинного обучения могут быть обучены распознавать эти признаки.

Основной целью является на основе анализа интерпретировать результаты относительно состояния здоровья пшеницы. Это может указывать на области заболеваний, дефицит питательных веществ или другие стрессоры, влияющие на рост. Далее в зависимости от результатов мы можем рекомендовать принять соответствующие меры, такие как корректировка графика полива, внесение удобрений или лечение болезней.

Литература.

1. Naiyue Hu , Wei Li, Chenghang Du, Zhen Zhang, Yanmei Ga, Zhencai Sun, Li Yang, Kang Yu, Yinghua Zhang, Zhimin Wang. Predicting micronutrients of wheat using hyperspectral imaging. Food Chemistry. Volume 343, 1 May 2021, 128473.
2. Junjie Ma, Bangyou Zheng, Yong He. Applications of a Hyperspectral Imaging System Used to Estimate Wheat Grain Protein: A Review. Front Plant Sci. 2022; 13: 837200.
3. Xiu Jin, Lu Jie, Shuai Wang, Hai Jun Qi, Shao Wen Li. Classifying Wheat Hyperspectral Pixels of Healthy Heads and Fusarium Head Blight Disease Using a Deep Neural Network in the Wild Field. Remote Sens. 2018, 10(3), 395.

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЦВЕТОМЕТРИЯ:
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ**

Тирас Х.П.^{1*}, Зеленская Н.Н.², Вальков И.Н.³

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, НБИКС Курчатовский институт,
Пушино, Москва, Россия

²Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, Пушино, Россия

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

*e-mail: tiras1950@yandex.ru, тел. +7 916 2119879

С появлением средств получения изображений биологических объектов, а также спектральных данных в цифровом виде фактически возникла новая область биофотоники, которую можно назвать *биологической цветометрией*. Стало возможным прижизненное создание цифрового образа биологического объекта с сохранением значимых характеристических признаков, в первую очередь, цвета.

Наиболее удобным зоологическим объектом для получения подобной информации является плоский червь планария. При работе с *Girardiatigrina* (Girard, 1850) по характеристическим полосам в спектре поглощения удалось определить источник питания животного. Спектр был получен при помощи портативного спектрометра Eye-One Pro (i1 Pro) (X-Rite, Швейцария) без использования специализированных кювет [1].

Биологическая цветометрия также открывает новые перспективы для работы с образцами растений: позволяет объективно характеризовать цветовые и спектральные параметры живого растения, и впоследствии использовать их как характеристический признак, или же для диагностики заболеваний.

Биологическая цветометрия, как направление биофотоники на уровне целого организма, является неотъемлемым параметром будущих цифровых гербариев живых растений позволяет, представляющий из себя совокупность прижизненных цифровых изображений растений в высоком разрешении с сохранением цвета как биологического признака [2]. В совокупности с классическим гербарием, который является собранием фиксированных (чаще всего, при помощи высушивания) образцов растений, и позволяет проводить морфологические и анатомические исследования, «цифровой гербарий» позволяет с большей полнотой

сохранить значимые для дальнейшего научного исследования параметры растения [3].

Прижизненное получение спектральной характеристики растения даёт возможность судить о пигментном составе, а также о процессах, сопряжённых с его изменением, как то: старение, нехватка минерального питания, инфекционные заболевания и др.

Стандартные цветочные данные имеют также существенное значение для классификации сортов растений с различным оттенком венчика. Такие системы, где главным классификационным признаком выступает цвет, охарактеризованный количественно, могут быть полезны в ландшафтном дизайне и озеленении города.

Таким образом, биологическая цветометрия, являясь частью биофотоники и биофизики в целом, позволяет получать данные о живом биологическом объекте и имеет ряд значимых практических приложений.

Литература.

1. Апыри V. V. et al. Non-invasive in vivo spectroscopy using a monitor calibrator: A case of planarian feeding and digestion statuses // *Microchemical Journal*. – 2021. – Т. 166. – С. 106255;
2. Тирас Х.П., Зеленская Н.Н., Вальков И.Н. Цифровой гербарий живых образцов как новый информационный ресурс биологии // *Вестник Тульского государственного университета. Международная научная конференция «Изучение и сохранение биоразнообразия»*, Тула: Изд-во ТулГУ, 2023. С. 160-170.
3. Тирас Х.П., Зеленская Н.Н., Вальков И.Н., Тирас Н.Р. Биологическая цветометрия как новая область биофотоники // *Светотехника*. – 2024. – №2. – С. 11.

**ОПТИЧЕСКАЯ ДИФфуЗИОННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ БИОТКАНЕЙ И ЕЕ
ПРИМЕНЕНИЕ В БИМЕДИЦИНСКИХ ЗАДАЧАХ**

Diffuse optical spectroscopy and its application in biomedical studies

*Турчин И.В.**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики
им. А.В. Гапонова-Грехова Российской академии наук»,
Нижний Новгород, Россия

**e-mail: ilya@ipfran.ru, тел. +7 951 9178784*

Оптическая диффузионная спектроскопия (ОДС) – метод исследования тканей, основанный на их облучении широкополосным излучением видимого и(или) ближнего инфракрасного диапазона длин волн и регистрацией диффузно рассеянного тканью излучения. Численная обработка зарегистрированного спектра позволяет реконструировать концентрации тканевых хромофоров (оксигенированный и деоксигенированный гемоглобин, вода, липиды, меланин, коллаген и др.), используя данные об их парциальных спектрах поглощения, а также модель распространения света в тканях. ОДС применяется для решения различных биомедицинских задач: исследования функции мозга (fNIRS), определения границ опухолей, дифференциальной диагностики новообразований, мониторинга лечения злокачественных новообразований, диагностики кожных заболеваний, в трансплантологии и др. Точность реконструкции концентраций хромофоров зависит от двух ключевых факторов – точности измерений спектров экстинкции, т.е. учета инструментальных характеристик измерительной ОДС-системы (спектральная яркость источника, чувствительность детектора, переходные функции волокон), и точности физической модели, описывающей распространение света в тканях, применяемой для реконструкции концентраций хромофоров. Для повышения точности измерений может использоваться метод самокалибровки, основанный на измерениях двумя источниками и двумя детекторами, расположенными симметрично относительно друг друга (при этом для каждого источника измерения проводятся на обоих детекторах). Несмотря на увеличение времени измерений в данном подходе, он обладает явным преимуществом по точности по сравнению с традиционным радиометрическим подходом, а также позволяет уменьшить влияние оптических неоднородностей в области контакта оптоволоконного шупа с тканью. Разработанный в ИПФ

РАН прибор для широкополосной ОДС с самокалибрующимся щупом [1] был применен в различных биомедицинских исследованиях, в частности для оценки приживаемости кожных трансплантатов [2].

Проект выполнен в рамках программы НЦМУ «Центр фотоники» при финансовой поддержке Минобрнауки, соглашение № 075-15-2022-316.

Литература.

1. Perekatova, V.; Kostyuk, A.; Kirillin, M.; Sergeeva, E.; Kurakina, D.; Shemagina, O.; Orlova, A.; Khilov, A.; Turchin, I. VIS-NIR Diffuse Reflectance Spectroscopy System with Self-Calibrating Fiber-Optic Probe: Study of Perturbation Resistance. *Diagnostics* 2023, 13, 457.
2. Turchin, I.; Beschastnov, V.; Peretyagin, P.; Perekatova, V.; Kostyuk, A.; Orlova, A.; Koloshein, N.; Khilov, A.; Sergeeva, E.; Kirillin, M.; Ryabkov, M. Multimodal Optical Monitoring of Auto- and Allografts of Skin on a Burn Wound. *Biomedicines* 2023, 11, 351.

**ТЕМНОПОЛЬНАЯ ГИПЕРСПЕКТРАЛЬНАЯ МИКРОСКОПИЯ В
ХАРАКТЕРИСТИКЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ И
КОЛЛОИДНЫХ ЧАСТИЦ В ДИНАМИКЕ**

**Dark-field hyperspectral microscopy as a tool to investigate biological systems and
colloid particles in real time**

Фахруллин Р.Ф.*

Казанский федеральный университет
Казань, Республика Татарстан, Россия

*e-mail: kazanbio@gmail.com

Микроскопия в темном поле может быть использована для эффективной детекции и идентификация наноразмерных материалов в клетках, тканях, организмах и коллоидных системах *in situ* (без какой-либо фиксации, окраски и трудоемкой пробоподготовки) [1]. Предельные размеры обнаружения наноразмерных частиц составляют около 5 нм для сфер благородных металлов, и около 20 нм для полимерных, углеродных и керамических частиц. Гиперспектральная визуализация с использованием спектральных библиотек в видимом или инфракрасном диапазоне может быть использована как для определения химических характеристик объектов, так и для оценки их структуры [2]. Таким образом, метод темнопольной микроскопии в сочетании с гиперспектральным анализом получает широкое применение в биомедицинских и экологических исследованиях. Кроме того, изучение поведения единичных коллоидных частиц в реальном времени с помощью темнопольной микроскопии представляет интерес для анализа коллоидных систем [3]. Доклад познакомит слушателей с методологией гиперспектральной микроскопии в темном поле, затрагивая некоторые последние работы в этой области.

Литература.

1. Fakhrullin R, Nigamatzyanova L, Fakhrullina G. (2021) Sci Total Environ. 772:145478.
2. Beach JM, Kryuchkova M, Fakhrullin R, Mazurova K, Stavitskaya A, Cheatham BJ, Fakhrullin R (2023) Bull Chem Soc Jpn, 96:72–83.
3. Iakovlev I, Deviatov A, Lvov Y, Fakhrullina G, Fakhrullin R, Mazurenko V. (2022) ACS Nano, 16:5867–5873.

**ИССЛЕДОВАНИЕ СТАТИСТИКИ ЛАЗЕРНЫХ СПЕКЛ-ПОЛЕЙ ПРИ
ОТРАЖЕНИИ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ОТ КОЖИ ПРИ ЕЕ ИММЕРСИОННОМ
ОПТИЧЕСКОМ ПРОСВЕТЛЕНИИ**

**Study of the statistics of laser speckle fields upon reflection of laser radiation from
the skin during immersion optical clearing**

Харченко А.А.^{1}, Тимошина П.А.^{1,2}, Тучин В.В.^{1,2,3}*

¹Саратовский национальный исследовательский государственный
университет имени Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

²Национальный исследовательский Томский государственный
университет, Томск, Россия

³Институт проблем точной механики и управления ФНЦ «Саратовский
научный центр РАН», Саратов, Россия

**e-mail: anton_xarchenko_99@mail.ru, тел. +7 937 2238014*

Одной из целей современных исследований является создание неинвазивных методов анализа биологических тканей. Получение и анализ спекл-картин от живых тканей является перспективным подходом для создания таких биофизических основ методов. Так, в работе [1] демонстрируется подход, в котором с помощью воздействия переменных магнитных полей на ткани, зондирования этой области лазерным излучением и анализирующего искусственного интеллекта можно определить уровень сахара в крови человека по поведению спекл-структур отраженного лазерного пучка. В работе [2] исследовалось изменение внутриглазного давления по изменению отраженного спекл-модулированного лазерного излучения от склеры глаза.

Целью наших исследований является создание нового метода анализа спекл-картин для отраженных рассеянных гауссовых пучков от кожи человека в условиях снижения кратности рассеяния зондирующего излучения с помощью оптических просветляющих агентов. Используя в качестве просветляющего агента водный раствор 50%-фруктозы, были получены спекл-картины для кожи добровольцев до и после применения просветляющего агента. Далее, анализировали статистические свойства спекл-картин, а именно определяли функции распределения флуктуаций интенсивности и пространственные автокорреляционные функции этих пространственных флуктуаций. Автокорреляционная функция показала высокую чувствительность к малым изменениям спекл-картин при действии просветляющего агента.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 23-14-00287.

Литература.

1. D. Pal, A. Kumar, N. Avraham, Y. Eisenbach, Y. Beiderman, S. Agdarov, Y. Beideman, Z. Zalevsky .Noninvasive blood glucose sensing by secondary speckle pattern artificial intelligence analyses// Journal of Biomedical Optics August 2023, Vol. 28(8) 087001.
2. Z. Kalyuzhner, S. Agdarov, Y. Beideman, A. Bennet, Y. Beiderman, Z. Zalevsky. Remote and low-cost intraocular pressure monitoring by deep learning of speckle patterns// Journal of Biomedical Optics March 2024 Vol. 29(3) 037003.

УЛУЧШЕНИЕ ЛЕЧЕНИЯ ЛАЗЕРНОЙ ГОЛОВКИ С ПОМОЩЬЮ ОПТИЧЕСКОГО ПРОСВЕТЛЕНИЯ

Шансхул Алаа Сабих^{1}, Лазарева Е.Н.^{1,2}, Тучина Д.К.^{1,2},
Генина Э.А.^{1,2}, Тучин В.В.^{1,2}*

¹Институт физики и Научный медицинский центр, Саратовский
национальный исследовательский государственный университет имени
Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

²Лаборатория лазерной молекулярной визуализации и машинного
обучения, Национальный исследовательский томский государственный
университет, Томск, Россия

e-mail: alaa2015krote@yahoo.com,

e-mail: tuchinvv@mail.ru

Аннотация. Технология оптической просветление (ОП) тканей быстро развивалась в последнее десятилетие благодаря достижениям в микроскопическом оборудовании и развитию систем визуализации головного мозга. В данной работе представлены экспериментальные результаты по важнейшим оптическим свойствам тканей головы крыс, контролируемым введением раствора иммерсионный агент (ИА). Показатель преломления (ПП) тканей головы крыс измеряли *ex vivo* с помощью оптической когерентной томографии (ОКТ). Основное преимущество данного метода ОКТ-мониторинга заключается в том, что он позволяет одновременно и непрерывно измерять как показатель преломления, так и геометрическую толщину, объемные доли воды и оптического просветляющего агента (ОПА) в образцах, не прерывая естественного хода процесс ОП. Эксперименты показали, что введение иммерсионных жидкостей позволяет эффективно управлять оптическими свойствами тканей, которые делают (скальп – череп – серое вещество – белое вещество – твердая мозговая оболочка) голову крысы более прозрачной, увеличивая тем самым способность проникновения света через ткани. Показано, что погружение тканей головы крысы в раствор 70% глицерина снижает коэффициент светорассеяния примерно на 10-15%, где спектр отражения уменьшился через 60 мин. Представленные результаты могут быть использованы при разработке методов функциональной визуализации и разработке новых методов диагностики и лечения заболеваний головного мозга.

Ключевые слова. Оптической просветление; оптический свойства; оптическая когерентная томография; показатель преломления; биологические ткани головы. иммерсионный агент.

ПРИМЕНЕНИЕ СВЕТОДИОДНОГО ОСВЕЩЕНИЯ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ РАСТЕНИЙ МЯТЫ ПЕРЕЧНОЙ В УСЛОВИЯХ ЗАКРЫТОЙ БИОСИСТЕМЫ

Шелепова О.В.¹, Баранова Е.Н.¹, Латушкин В.В.^{2,3}, Новиков В.Б.²

¹Главный ботанический сад Н.В. Цицина Российской академии наук,
Москва, Россия

²АНО Институт стратегии развития, Москва, Россия

Исследована возможность регуляции биомассы и продуктивности *Mentha piperita* L. при выращивании в условиях закрытой системы культивирования Синерготрон. Установлено, что закрытая система позволяет выявлять тонкие механизмы изменения растений и их морфологии и метаболизма.

Ключевые слова: программно регулируемое светодиодное освещение, обработка изображений, *Mentha piperita* L.

Мята перечная (мята английская, мята холодная) (*Mentha piperita* L.) – многолетнее травянистое растение семейства яснотковых (*Lamiaceae*), ценное эфиромасличное и лекарственное растение. Из свежесобранной надземной массы получают эфирное масло, из которого выделяют ментол – обезболивающее средство, входящее в состав многих комплексных препаратов. Входящие в состав мяты физиологически активные вещества улучшают вкусовые качества продуктов и усиливают их усвояемость, благоприятно влияют на обмен веществ, деятельность нервной и сердечно-сосудистой систем человека.

Одним из лимитирующих факторов при круглогодичном культивировании мяты остается освещение в частности, светодиодное.

В данном исследовании оценивается влияние действия программно регулируемого освещения по интенсивности (765 мкмоль/м²с в эксперименте и 824 мкмоль/м²с – контрольные образцы) и спектральному составу (белый свет W I, W II, а также полный спектр F I и F II) на пигментный состав листьев мяты, урожайность и, как следствие, на выход эфирного масла растений мяты перечной сорта Ароматное наслаждение.

Фенотипические характеристики мяты перечной использовали для определения расчетных количественных показателей по окраске надземных органов. Для получения изображений использовали феносканер Синерготрон ИСР02-01 (ИСР, Москва, Россия).

Результаты. Растения W I и W II имели немного более длинные междоузлия и более зеленую листву по сравнению с растениями F I и F II в идентичных условиях выращивания (рис. 1). Наиболее заметные различия заключались в изменении в цвете листовой пластинки, что показано в индексах цвета RGB на каждом изображении.



Рис. 1. Синий спектр практически не изменился во всех вариантах опыта. Показатели интенсивности в красном спектре снизились как у растений W II, так и у растений F II. Контрольные растения показали более высокую чувствительность интенсивности окраски в зеленом диапазоне.

Эфирное масло генерируется и хранится в секреторных железах во всех органах надземной части растений мяты (стеблях, листьях, чашечке, венчике). Максимальное их количество расположено на цветках, листьях среднего и верхнего ярусов, минимальное количество – на стеблях растений. С ростом и увеличением размеров листьев и цветков формируются все новые железы, при этом развитие желез – достаточно быстрый процесс.

Максимальная плотность секреторных желез при их больших размерах, зафиксированная у растений вариантов FI и FII, обусловила более высокий выход эфирного масла у образцов мяты – в 1,1 раза по сравнению с растениями WI и WII.

Заключение. По нашим данным, использование закрытых биологических систем позволяет оптимизировать исследования воздействия программно регулируемого оптического излучения на процесс выращивания эфиромасличных растений. Освещение растений мяты светом, приближенным к солнечному, позволяет сформироваться на листьях верхнего яруса эфиромасличным железам более крупного диаметра и более высокой плотности, что обеспечивает увеличение выхода эфирного масла.

**ВЛИЯНИЕ БЛИЖНЕГО УФ (360-380 нм) в
КУЛЬТИВИРОВАНИИ КАРТОФЕЛЯ**

Near UV Irradiation (360-380 nm) in Potato Cultivation

Щербёнок С.В.^{1,2*}, Лисина Т.Н.¹, Елисеев С.Л.²

¹«Пермский НИИСХ» – филиал Пермского федерального научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Пермь, Россия

²Пермский государственный аграрно-технологический университет имени академика Д.Н. Прянишникова, Пермь, Россия

*e-mail: sshcherbenok@bk.ru, тел. +7 950 4442296

Ультрафиолетовое (УФ) излучение – это часть электромагнитного излучения в диапазоне длин волн от 100 до 400 нм. УФ излучение может выступать и как негативный фактор для растений, и как положительный, поэтому этот фактор обладает потенциалом для регуляции биохимических и физиологических процессов. Выделяют три зоны ультрафиолета: «УФ А» –315-400 нм (ближний УФ), «УФ-В» –280-315 нм, «УФ-С» – 100-280 нм. [1].

УФ излучение солнца, достигающее поверхности Земли, в основном состоит из УФ-А излучения (95%) [2]. УФ-А способствует накоплению и образованию полезных веществ в листьях растений, предотвращает их вытягивание, усиливает фотосинтез. В условиях защищённого грунта, где укрывные материалы задерживают часть УФ излучения, и в условиях искусственного освещения дополнительное освещение УФ-А может существенно увеличить урожайность сельскохозяйственных культур. [1, 3].

Картофель является одной из ключевых сельскохозяйственных культур. В исследованиях О. А. Ковалёвой [5] использование УФ-В облучения позволило увеличить коэффициент клубневого размножения и способствовало накоплению большего количества сухого вещества в клубнях.

Проведенные в Пермском НИИСХ исследования по досветке УФ-А (360 нм) меристемных растений картофеля в течение нескольких дней после пересадки в грунт из условий *in vitro* показали, что растения картофеля некоторых сортов имеют более развитую корневую систему, большую площадь листьев, увеличенное содержание пролина. Уровень пролина считается одним из признанных маркеров устойчивости растения, он имеет ряд свойств, обеспечивающих поддержание клеточного гомеостаза и его переход в новое адаптивное состояние [5].

В Пермском НИИСХ заложен длительный опыт по изучению влияния светодиодного освещения (380 нм) на растения картофеля в условиях защищенного грунта. Обнаружено влияние досветки УФ (380 нм) на содержание фотосинтетических пигментов у картофеля сортов Невский и Шах, на время наступления фенологических фаз.

Работа выполнена в рамках государственного задания, номер государственной регистрации НИОКТР 122031100058-3.

Литература.

1. Mariz-Ponte N., Martins S., Gonçalves A., Correia C.M., Ribeiro C., Dias M.C., Santos C. The potential use of the UV-A and UV-B to improve tomato quality and preference for consumers. *Sci. Hortic.* 2019;246:777-784.
2. Correa M.S.S., Saavedra M.R.R., Parra E.A., et al. Ultraviolet Radiation and Its Effects on Plants [Internet]. *Abiotic Stress in Plants - Adaptations to Climate Change*. Intech Open; 2023.
3. González-García, Y.; Escobar-Hernández, D.I.; Benavides-Mendoza, A., et al. UV-A Radiation Stimulates Tolerance against *Fusarium oxysporum* F. sp. *lycopersici* in Tomato Plants. *Horticulturae* 2023, 9, 499.
4. Ковалёва, О.А. Влияние УФ-облучения на биосинтез пигментов и фотодинамические характеристики переменной флуоресценции листьев меристемных регенерантов картофеля (*Solanum tuberosum*) // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. 2006. № 5. С. 85 – 88.
5. Шевякова Н.И. Метаболизм и физиологическая роль пролина в растениях при водном и солевом стрессах / Н.И. Шевякова // Физиология растений. 1983. Т.30. №4. С. 768-783.

ВЛИЯНИЕ ПЕРИОДИЧЕСКИХ СТРУКТУР ПАНЦИРЕЙ ДИАТОМОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ НА МАНИПУЛЯЦИЮ СВЕТОМ

Influence of diatom frustule periodic structures on light manipulation

*Цветинович Ю. *, Дьяков С.А., Гунпиус Н.А., Горин Д.А.*

Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

*e-mail: julijana.cvjetinovic@skoltech.ru, тел. +7 929 9572892

Диатомовые водоросли – это одноклеточные водоросли, известные своим уникальным кремнеземным экзоскелетом, который обладает высокоорганизованными пористыми структурами [1]. Эти панцири не только служат защитной оболочкой, но и играют ключевую роль в модуляции света для фотосинтетической активности. Взаимодействие между светом и сложными структурами панцирей диатомовых водорослей представляет значительный интерес для развития фотонных применений в биологических системах. В данной работе проведено исследование оптических свойств диатомовых водорослей, особенно акцентируя внимание на том, как периодическая пористая архитектура их панцирей усиливает взаимодействие света, что может иметь последствия для повышения эффективности фотосинтеза и разработки биофотонных устройств.

С помощью метода Фурье-модального метода было смоделировано взаимодействие света с панцирем центрических культур диатомовых, с учетом их структуры, периодичности и показателей преломления. Результаты симуляции показывают, что периодическая структура панцирей значительно улучшает эффективность пропускания и дифракции света, особенно в диапазоне длин волн 400-500 нм, который совпадает с полосой поглощения хлорофилла. Наблюдаемые интерференционные узоры внутри оболочек свидетельствуют о том, что их дизайн может быть оптимизирован для конкретных длин волн света, повышая эффективность фотосинтеза. Кроме того, были продемонстрированы превосходные оптические свойства периодических дизайнов диатомей по сравнению с непериодическими кремнеземными структурами такой же толщины.

Это не только расширяет наше понимание роли биологических структур в манипуляции светом, но и подчеркивают потенциал этих структур в разработке передовых материалов для фотонных применений. Путем имитации природного дизайна высокопористых оболочек диатомей можно создавать новые материалы, оптимизирующие поглощение и

рассеивание света, что может стать революционным в областях солнечной энергетики, сенсоров и нелинейных оптических устройств.

Данная работа проведена в рамках РФФ гранта №22-14-00209.

Литература.

1. Cvjetinovic, J., Luchkin, S.Y., Statnik, E.S. et al. Revealing the static and dynamic nanomechanical properties of diatom frustules–Nature's glass lace. Sci Rep 13, 5518 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31487-x>.

ИССЛЕДОВАНИЕ АВТОФЛУОРЕСЦЕНТНОГО МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ЛИМФОЦИТОВ МЕТОДОМ FLIM ПРИ МЕЛАНОМЕ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ПРЕДИКТОРА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИММУНОТЕРАПИИ

Autofluorescent metabolic profile of lymphocytes as a potential predictor of the efficiency of immunotherapy of melanoma patients

Южакова Д.В.¹, Изосимова А.В.¹, Сажина М.М.¹, Сачкова Д.А.^{1,2}, Шумская И.С.³, Можеров А.М.¹, Щеславский В.И.¹, Ширманова М.В.¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет,
Нижний Новгород, Россия

²ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

³Нижегородский областной клинический онкологический диспансер,
Нижний Новгород, Россия

**e-mail: yuzhakova-diana@mail.ru, тел. +7 920 0493566*

В настоящее время иммунотерапия чекпойнт ингибиторами занимает ведущую роль в лечении меланомы и некоторых других опухолей, однако вызывает выраженный ответ лишь у части пациентов. В эпоху персонализированной медицины необходимо выявить когорту пациентов, с наибольшей вероятностью отвечающих на терапию, однако ни один из существующих в клинике биомаркеров пока не может точно предсказать эффективность чекпойнт терапии. Автофлуоресцентный профиль метаболических коферментов в циркулирующих Т-клетках, оцененный с помощью флуоресцентной времяразрешенной микроскопии (FLIM) отражает ключевые изменения в лимфоцитах при активации и терапии и может стать надежным предиктором.

Целью работы было исследовать особенности автофлуоресцентного метаболического профиля лимфоцитов при меланоме и оценить его потенциал для прогнозирования ответа на иммунотерапию.

На первом этапе осуществлялась оптимизация подхода на модели мышинной меланомы B16F0. Были продемонстрированы возможности метаболического FLIM-имиджинга иммунных клеток как для мониторинга раннего ответа на чекпойнт терапию в ходе лечения путем визуализации свежих срезов лимфоузлов мышей, так и для прогнозирования ответа на чекпойнт терапию для индивидуальных животных до начала лечения с использованием оригинальной *in vitro* клеточной модели.

На втором же этапе проводилась валидация на материале от пациентов. Исследование проводили с использованием материала от 8

пациентов (фракция лимфоцитов из периферической крови) с нерезектабельной или метастатической меланомой III или IV стадии с назначенной терапией моноклональными антителами против PD-1 и/или анти-CTLA-4 в НОКОД, а также 8 здоровых доноров. Автофлуоресценцию метаболического кофермента никотинамидадениндинуклеотида (фосфата) (НАД(Ф)Н) визуализировали с помощью флуоресцентного конфокального микроскопа LSM 880 (Carl Zeiss, Германия) с FLIM-модулем TCSPC (Becker & Hickl GmbH, Германия).

В ходе исследования Т-лимфоцитов индивидуальных пациентов с меланомой до начала лечения по сравнению со здоровыми донорами выявлены два различных профиля автофлуоресценции НАД(Ф)Н, соответствующих определенному ответу на последующую терапию. У отдельных пациентов наблюдалось повышение относительного вклада свободной фракции НАДН $\alpha 1$ в большинстве Т-клеток, ассоциированное со сдвигом в сторону гликолиза для поддержания цитотоксических функций, удлинение времени жизни связанной компоненты НАДН $\tau 2$, ассоциированной с увеличением общего пула молекул НАД(Ф)Н в клетке в связи повышенной метаболической активностью, и появление в значительной части клеток вклада фосфорилированной формы НАДФН $\alpha 3$, ассоциированной с усилением пентозофосфатного пути для поддержания пролиферации и биосинтеза. Данная группа пациентов демонстрировала частичный ответ на иммунотерапию. В других случаях наблюдалось отсутствие изменений либо снижение НАДН $\alpha 1$ при высоком уровне внутренней гетерогенности, выраженным снижением значений НАДН $\tau 2$ и отсутствием фракции НАДФН $\alpha 3$, что может быть ассоциировано со снижением активности Т-клеток. Данные пациенты демонстрировали прогрессирование опухоли в ходе лечения.

Дальнейшее изучение автофлуоресцентного метаболического профиля Т-клеток пациентов в ходе терапии в будущем может позволить разработать персонализированные подходы к оценке эффективности лечения.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 23-74-10109.

Секция 4. Биолюминесценция и флуоресцентные белки

КАЛИБРОВКА ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО СИГНАЛА pH-ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО БЕЛКА Pt-GFP *IN VIVO* И *IN VITRO* ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ pH ЦИТОЗОЛЯ КЛЕТОК КОРНЕЙ ТАБАКА

In vitro and *in vivo* calibration of fluorescent signal of pH sensor Pt-GFP for determination cytosolic pH in tobacco root cells

Агеева М.Н.*, Юдинцев А.В., Воденеев В.А., Брилкина А.А.

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

*e-mail: ageeva@ibbm.unn.ru, тел. +7 930 7065397

Флуоресцентные генетически кодируемые сенсоры на основе GFP позволяют оценивать уровень pH в живых организмах. Процесс калибровки флуоресцентного сигнала в абсолютные значения pH является трудоемким. Калибровка *in vitro* по очищенному белку не учитывает ионную силу и буферную емкость клетки, что может привести к существенным артефактам. Калибровка *in vivo* в клетках растения, экспрессирующего pH сенсор, с применением ионофоров не может гарантировать равновесия pH в цитозоле этих клеток и наружном буфере.

Цель работы: получить калибровочные зависимости флуоресцентного сигнала pH-сенсора Pt-GFP *in vitro* и *in vivo* и определить значения pH цитозоля (pH_{цит}) в клетках корня табака.

Для калибровки *in vitro* раствор белка Pt-GFP (NanoLight Technologies, США) смешивали с буферными растворами с $4,5 \leq \text{pH} \leq 8,5$ (шаг 0,5). Для калибровки *in vivo* проростки трансгенного табака помещали в такие же буферные растворы с добавлением 250 мкМ КЦХФГ и инкубировали в течение 6-15 часов при 4°C. Интенсивность флуоресценции Pt-GFP в растворе и клетках растений оценивали с помощью микроскопа Carl Zeiss LSM 710 (Carl Zeiss, Германия), λ_{ex} Pt-GFP 405 и 488 нм, λ_{em} 505-525 нм, затем рассчитывали отношение флуоресценции F₄₈₈/F₄₀₅. После получения калибровочных зависимостей пересчитывали значения F₄₈₈/F₄₀₅ клеток корня в pH.

Калибровочная зависимость *in vitro* по белку имела форму сигмоиды, характерную для pH сенсоров. Значение pH, при котором F₄₈₈/F₄₀₅ имело среднее значение (pK), составило 7,4. Минимальное значение (R_{min}) F₄₈₈/F₄₀₅ было равно 0,27, максимальное (R_{max}) – 15,87.

Значения F488/F405 клеток различных зон корня табака отличаются и колеблются от 3,1 до 26,1. Причиной различий флуоресцентного сигнала в клетках могут быть поглощение биологическими молекулами возбуждаемого света и его рассеивание различными клеточными и внеклеточными структурами. Поэтому калибровку *in vivo* проводили отдельно для разных групп клеток с близкими значениями F488/F405: 1) клетки корневого чехлика, 2) клетки зоны деления и растяжения (ЗД, ЗР), 3) клетки эпидермиса зоны всасывания (ЗВ), 4) клетки коры ЗВ.

Все полученные *in vivo* калибровочные зависимости имели форму сигмоиды со схожим рК. Rmin и Rmax полученных калибровок существенно варьировали (Rmin 0,7-4,1, Rmax 10,1-34,2).

Рассчитанные абсолютные значения рНцит корней табака полученные с использованием калибровки *in vitro* находились в диапазоне 5,5-8,2, что не соответствует данным литературы (около 7,2). Ряд значений F488/F405 клеток табака превышал Rmax, поэтому их невозможно было пересчитать в абсолютные значения рНцит.

Согласно калибровкам *in vivo* рНцит колумеллы равен 7,6, латеральных клеток чехлика – 7,0, ЗД – 7,6, ЗР – 7,4, эпидермиса ЗВ – 7,0, коры ЗВ – 6,9.

Таким образом, были получены калибровки Pt-GFP *in vitro* и *in vivo* для табака, наиболее оптимальной оказалась тканеспецифичная калибровка *in vivo*. рНцит клеток корней табака находится в диапазоне 6,9-7,6.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ, соглашение № 075-15-2022-293.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДЕЛЬНЫХ РАСТЕНИЙ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ
ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ БЕЛКОВЫЕ СЕНСОРЫ ДЛЯ АНАЛИЗА ОТВЕТА
РАСТЕНИЙ НА РАЗЛИЧНЫЕ ВНЕШНИЕ ФАКТОРЫ**

**Using of model plants expressing fluorescent protein sensors for analysis of plant
response to various external factors**

Брилкина А.А., Агеева М.Н., Печёрина А.А., Здобнова Т.А.,
Гринберг М.А., Воденев В.А.*

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Россия

**e-mail: annbril@mail.ru, тел. +7 906 3526124*

Модельные растения, экспрессирующие флуоресцентные белковые сенсоры являются эффективным инструментом для расшифровки механизмов внутриклеточной и межклеточной сигнализации растений при действии на них различных факторов среды. Такие сенсоры позволяют в режиме реального времени регистрировать динамику содержания и локализации различных молекул в живых организмах. В настоящее время создано большое количество сенсорных флуоресцентных белков в том числе сенсоры pH – Pt-GFP, H₂O₂ – HyPer, Ca²⁺ – Case12. Коллективом авторов данной работы с помощью агробактериальной трансформации созданы растения табака и картофеля с постоянной экспрессией этих сенсоров во всех органах растения [1-6]. Полученные модельные растения позволили зарегистрировать изменение pH, волны H₂O₂ и Ca²⁺ при действии таких стимулов, как пониженная и повышенная температура, засоление, ожог, нагрев. С помощью ратиометрического сенсора pH – Pt- GFP определен уровень pH цитоплазмы в клетках разных зон корня, Изучены долговременные изменения pH, вызванные засолением, в корне и в листьях [2-4, 6]. При действии различных стимулов зарегистрированы быстрые дистанционные сигналы с участием pH, Ca²⁺ и H₂O₂. Исследовано изменение параметров сигналов при удалении от зоны локального раздражения. Таким образом, генетически кодируемые флуоресцентные сенсоры, экспрессируемые в растениях, позволяют неинвазивно в живых растениях выявлять изменения содержания и локализации важных сигнальных молекул, сопоставлять динамику их распространения, что позволит расшифровать их участие в реакции растений на внешние факторы и формирование механизмов устойчивости к ним.

Работа поддержана грантом РНФ № 22-14-00388.

Литература.

1. Pecherina A. et al. Whole-Plant Measure of Temperature-Induced Changes in the Cytosolic pH of Potato Plants Using Genetically Encoded Fluorescent Sensor Pt-GFP. *Agriculture* 2021. doi.:10.3390/agriculture11111131.
2. Ageyeva M., et al. Cell-Type-Specific Length and Cytosolic pH Response of Superficial Cells of Arabidopsis Root to Chronic Salinity. *Plants* 2022. doi.:10.3390/plants11243532.
3. Ageyeva M. et al. The Morphological Parameters and Cytosolic pH of Cells of Root Zones in Tobacco Plants (*Nicotiana tabacum* L.): Nonlinear Effects of NaCl Concentrations. *Plants* 2023. doi.: 10.3390/plants12213708.
4. Pecherina A. et al. Salt-Induced Changes in Cytosolic pH and Photosynthesis in Tobacco and Potato Leaves. *Int. J. Mol. Sci.* 2023. doi.:10.3390/ijms24010491.
5. Grinberg, M. et al. Effect of low-dose ionizing radiation on spatiotemporal parameters of functional responses induced by electrical signals in tobacco plants *Photosynthesis Research*, 2023. doi.:10.1007/s11120-023-01027-9.
6. Pecherina A. et al. Salt-Induced Early Changes in Photosynthesis Activity Caused by Root-to-Shoot Signaling in Potato. *Int.J. Mol. Sci.* 2024. doi.: 10.3390/ijms25021229.

**КИНЕТИКА ЛЮЦИФЕРАЗЫ СВЕТЛЯКОВ В ПРИСУТСТВИЕ БЕЛКА
ТЕПЛОВОГО ШОКА 90 И АПИРАЗЫ**

Kinetics of firefly luciferase in the presence of heat shock protein 90 and apyrase

*Кириллова М.А. *, Ранджан Р., Кратасюк В.А.*

Сибирский Федеральный Университет
Красноярск, Россия

**e-mail: kirillva@mail.ru, тел. +7 950 9979278*

Белок теплового шока 90 (Hsp90) относится к молекулярным шаперонам, способствующим сворачиванию клиентских белков. Это универсальный многофункциональный белок, который сверхэкспрессируется в стрессовых условиях, в раковых клетках, при реакции теплового шока, нейродегенеративных заболеваниях и вирусных инфекциях. В качестве терапевтического метода для борьбы с раковыми заболеваниями применяются ингибиторы Hsp90. Исследования на основе рефолдинга люциферазы светляков (FLuc) открыли новые перспективы для высокопроизводительного скрининга потенциальных ингибиторов Hsp90 [1]. Было показано, что Hsp90 обеспечивает эффективный рефолдинг FLuc при инкубации с лизатом ретикулоцитов кролика, который является источником необходимых ко-шаперонов [2]. Анализы рефолдинга, основанные на количественном анализе Hsp90, могут указывать на уровень стресса у человека и могут рассматриваться как инструмент для прогнозирования заболеваний.

В настоящей работе исследовали изменение люминесценции и кинетики FLuc в присутствии Hsp90 и апиразы без использования дополнительных шаперонов [3]. Было обнаружено, что в присутствии Hsp90 и АТР активность FLuc увеличивалась. После инкубирования FLuc совместно с Hsp90 и АТР при 50°C в течение 15 минут образец, содержащий все три компонента, имел наибольший сигнал люминесценции по сравнению с образцами, содержащими FLuc и Hsp90, FLuc и АТР, и только FLuc, что указывает на защитную роль Hsp90 против нестабильности FLuc во время анализа.

Также при добавлении Hsp90 непосредственно в реакционную смесь изменялась кинетика люминесцентной реакции FLuc. Это наблюдение указывает на роль Hsp90 в стабилизации FLuc во время ферментативной реакции.

Более того было показано, что Hsp90 поддерживает апиразу в активном состоянии после совместного инкубирования при 50°C.

Биочувствительность анализа Hsp90 на основе апиразы оказалась выше по сравнению с анализами рефолдинга на основе FLuc, поскольку активность апиразы сохранялась после инкубационного периода 15-30 минут в присутствии Hsp90 и АТФ, в то время как FLuc теряла 60% люминесцентного сигнала.

Литература.

- Galam, L.; Hadden, M. K.; Ma, Z.; Ye, Q.-Z.; Yun, B.-G.; Blagg, B. S. J.; Matts, R. L. High-Throughput Assay for the Identification of Hsp90 Inhibitors Based on Hsp90-Dependent Refolding of Firefly Luciferase. *Bioorg. Med. Chem.* 2007, 15 (5), 1939–1946
- Minami, Y.; Minami, M. Hsc70/Hsp40 Chaperone System Mediates the Hsp90-dependent Refolding of Firefly Luciferase. *Genes Cells* 1999, 4 (12), 721–729
- Kirillova, M. A.; Ranjan, R.; Esimbekova, E. N.; Kratasyuk, V. A. Role of Hsp90 and ATP in Modulating Apyrase Activity and Firefly Luciferase Kinetics. *Int. J. Biol. Macromol.* 2019, 131, 691–696

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ БАКТЕРИЙ В
НАНОБИОТЕХНОЛОГИИ: МОНИТОРИНГ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И
БИОСИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ**

**Application of Luminescence Bacteria in Nanobiotechnology: Monitoring of
Biological Activity and Biosynthesis of Nanoparticles**

Кудряшева Н.С.^{1,2}, Сушко Е.С.¹, Кичеева А.Г.¹, Колесник О.В.^{1,2},
Зеньков А.В.², Мартынова А.А.²*

¹Институт биофизики СО РАН – обособленное подразделение ФИЦ
«Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН»,
Красноярск, Россия

²Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия

**e-mail: n-qdr@yandex.ru, тел. +7 913 5613315*

В связи с расширением перспектив применения нанокompозитов в медицине, фармакологии, пищевой промышленности, экологии и др., свойства наноразмерных структур различного состава в настоящее время являются объектом интенсивных исследований. Мы демонстрируем использование морских люминесцентных бактерий в двух направлениях: для мониторинга биологической активности нанообъектов (по аналогии с низкомолекулярными объектами) и возможности биосинтеза наночастиц (НЧ). С точки зрения первого направления, биолюминесцентные бактерии являются классическими тестовыми системами, используемыми для сравнения биологической активности различных соединений благодаря простоте и высокой скорости анализа; интенсивность их люминесценции используется в качестве сигнального физиологического параметра. В нашей работе биолюминесцентные тестовые системы были адаптированы для мониторинга биоэффектов различных НЧ: исследовали их токсичность, анти(про)оксидантную активность и радиопротекторные свойства. Использовали клеточный и ферментативный биотесты (соответственно светящиеся бактерии *Photobacterium phosphoreum* и их ферментативные реакции). Исследованы НЧ, различающиеся структурой ядра и модификацией поверхности: (1) фуллеренолы с разным размером каркаса, количеством кислородных заместителей, участием эндоедрального и экзоедрального металла, (2) НЧ оксида железа с разными модификаторами поверхности, (3) НЧ золота, (4) трехкомпонентные нанокompозиты, включающие металло-органические каркасы, оксид железа и модификаторы (аскорбиновую кислоту или гуминовые вещества). Были использованы два дополнительных метода оценки

механизмов воздействия НЧ: содержание активных форм кислорода (АФК) оценивали с помощью хемилюминесцентного люминольного метода, а изменения бактериальной инфраструктуры отслеживали с помощью электронной микроскопии. Специфические эффекты НЧ объясняли гидрофобными взаимодействиями с участием клеточных мембран, сродством к электрону и нарушением баланса АФК. Второе направление исследований связано с возможностью биосинтеза НЧ элементарного селена: с помощью методов электронной микроскопии выявлены НЧ в бактериях, подвергшихся воздействию Na_2SeO_3 . Энергодисперсионный спектр обнаружил высокое содержание селена в этих НЧ. Максимумы распределения НЧ были найдены в пределах 45-55 нм. Таким образом, показано, что люминесцентные бактерии могут быть использованы в качестве полифункционального биологического инструмента для (1) мониторинга токсичности селеносодержащих водных сред, (2) детоксикации селеносодержащих растворов, (3) биотрансформации оксо-ионов селена в НЧ селена. Последнее свойство бактерий важно для биотехнологического применения бактерий, включающего производство пищевых добавок и продуктов, обогащенных селеном.

ВЛИЯНИЕ pH НА ОБРАЗОВАНИЕ АКТИВНОГО ФОТОПРОТЕИНОВОГО КОМПЛЕКСА: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Effect of pH on the Formation of Active Photoprotein Complex:

Experimental and Theoretical Study

*Маликова Н.П.¹, Рогова А.В.², Буракова Л.П.^{1,2}, Еремеева Е.В.^{1,2},
Наташин П.В.¹, Томилин Ф.Н.^{2,3}, Высоцкий Е.С.^{1*}*

¹Институт биофизики Сибирского отделения Российской академии наук, Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», Красноярск, Россия

²Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия

³Институт физики им. Л.В. Киренского Сибирского отделения Российской академии наук, Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», Красноярск, Россия

**e-mail: eugene.vysotski@gmail.com, тел. +7 913 5146176*

Биолюминесценция различных морских кишечнорастных животных обусловлена Ca^{2+} -регулируемыми фотопротеинами. Все открытые к настоящему времени фотопротеины представляют собой комплекс, состоящий из одноцепочечного полипептида и активированного кислородом целентеразина (2-гидропероксицелентеразина), прочно, но нековалентно связанного во внутренней полости белка. Требуется только добавление ионов кальция, чтобы инициировать реакцию декарбоксилирования связанного 2-гидропероксицелентеразина, приводящую к образованию связанного с белком продукта, целентерамида, в возбужденном состоянии, релаксация которого в основное состояние сопровождается излучением света. Таким образом, Ca^{2+} -регулируемые фотопротеины фактически представляют собой стабильный фермент-субстратный комплекс. Эта особенность, а также то, что их биолюминесценция не требует присутствия кислорода, отличает фотопротеины от классических люцифераз.

Прежде всего, Ca^{2+} -регулируемые фотопротеины привлекают внимание исследователей благодаря своему аналитическому потенциалу, обусловленному их способностью излучать свет при связывании Ca^{2+} . Это свойство позволило измерить Ca^{2+} непосредственно в живых клетках и, по сути, акворин оказался первым индикатором внутриклеточного $[\text{Ca}^{2+}]$. Однако только клонирование кДНК генов, кодирующих эти белки, обеспечило значительный прорыв в их аналитическом применении.

Апобелок, синтезирующийся внутри клеток, легко конвертируется в активный фотопроtein при внеклеточном добавлении целентеразина, поскольку он может свободно диффундировать в клетку через мембрану. Таким образом, клетки приобретают «встроенный» индикатор кальция. В настоящее время этот подход широко применяется и позволяет отслеживать уровень внутриклеточного кальция не только в цитоплазме клеток, но и клеточных органеллах благодаря целевой последовательности, слитой с последовательностью апофотопроteина и обеспечивающей целевую локализацию индикатора.

К настоящему времени выполнены многочисленные исследования, посвященные выяснению роли аминокислот, локализованных во внутренней полости фотопроteинов, в излучении света. Определены структуры 4-х конформационных состояний фотопроteина, а также нескольких мутантов с заменами ключевых аминокислот. Структурные данные, а также исследования свойств мутантов позволили предложить механизм как инициации реакции биолуминесценции Ca^{2+} , так и образования эмиттера, а также роль некоторых аминокислот в этих процессах [1,2]. В то же время гораздо меньше известно о первом этапе реакции биолуминесценции – образовании активного фотопроteинового комплекса, хотя понимание механизма этой реакции и влияния различных факторов на процесс очень важно, особенно в связи с применением фотопроteинов для мониторинга уровня кальция как в цитоплазме, так и в органеллах различных типов клеток.

В данной работе представлены результаты исследования влияния pH на скорость превращения апо-обелина и апо-акворина в активные фотопроteины, а также на выходы активных обелина и акворина. На основании полученных экспериментальных данных и применения QM/MM методов мы предлагаем механизм образования 2-гидропероксипроизводного целентеразина, а также роль отдельных аминокислот активного центра фотопроteинов в этом процессе.

Работа выполнена при поддержке грантов РНФ № 24-44-00009 и Министерства науки и высшего образования РФ № FWES-2024-0018.

Литература.

1. Vysotski, E.S., Lee, J. Ca^{2+} -regulated photoproteins: structural insight into the bioluminescence mechanism. Acc. Chem. Res. 2004, 37, 405-415.
2. Ereemeeva, E.V., Vysotski, E.S. Exploring bioluminescence function of the Ca^{2+} -regulated photoproteins with site-directed mutagenesis. Photochem. Photobiol. 2019, 95, 8-23.

ЭВОЛЮЦИЯ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ ФУНКЦИИ В СВЕЯЩИХСЯ КОПЕПОДАХ

Evolution of bioluminescent function in luminous copepods

Маркова С.В.^{1,2*}, Вяткина М.О.¹, Высоцкий Е.С.¹

¹Институт биофизики СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН,
Красноярск, Россия

²Сибирский федеральный университет
Красноярск, Россия

*e-mail: svetlana@ibp.ru, тел. +7 902 9420682

При опасности биолюминесцентные копеподы выпускают ярко светящуюся каплю, убегая под прикрытием вспышки. Секретируемая голубая (эмиссионный максимум ~485 нм) биолюминесценция копепод обеспечивается простой реакцией окисления люциферазой низкомолекулярного субстрата целентеразина [1], предположительно, антиоксиданта, обнаруженного даже у несветящихся морских организмов. Хотя структура природной люциферазы копепод до сих пор остается неизвестной, функциональным скринингом для *Gaussian princeps* и *Metridia longa* были идентифицированы кДНК гены, кодирующие небольшие высокоактивные белки, GrLuc и ряд MLuc изоформ, соответственно, катализирующие окисление целентеразина с излучением света. Эти высокоомологичные белки и рассматриваются в настоящее время как люциферазы копепод. Клонированные кДНК гены сразу же нашли свое применение как высокоактивные биолюминесцентные репортеры в биомедицинских исследованиях *in vitro* и *in vivo*, в основном для генетически кодируемого репортерного анализа [2].

В настоящей работе идентифицированы геномные варианты люциферазных генов *M. longa* и подтверждено наличие в геноме *Metridia* для люциферазы как минимум четырех пар неаллельных паралогичных генов для различных изоформ, не считая псевдогенов. Представители идентифицированных паралогичных групп изоформ довольно существенно отличаются по своим люминесцентным свойствам. Анализ последовательностей однозначно предполагает, что люциферазный ген возник на самой ранней стадии эволюции суперсемейства копепод *Augaptiloidea* порядка *Calanoida* путем дубликации небольшой последовательности с интроном внутри, кодирующей около 70 аминокислотных остатков, не имеющих каталитической функции в отдельности [3]. Последующие дубликации и независимая эволюция

привели к появлению новых люциферазных изоформ с различными свойствами, обеспечивающими в настоящее время поддержание на высоком уровне биолуминесцентной функции в резко меняющихся условиях обитания копепод, в том числе температурных, в процессе ежедневных миграций в направлениях дно-поверхность. Таким образом, биолуминесцентная система морских копепод имеет единое происхождение и явно сформировалась до дифференцировки копеподного суперсемейства Augartiloidea на отдельные виды.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 24-44-00009 и гранта FWES-2024-0018 Министерства науки и высшего образования РФ.

Литература.

1. Markova S.V., Golz S., Frank L.A., Kalthof B., Vysotski E.S. Cloning and expression of cDNA for a luciferase from the marine copepod *Metridia longa*. A novel secreted bioluminescent reporter enzyme. *J Biol. Chem.* 2004, 279, 3212-3217.
2. Markova S.V., Larionova M.D., Vysotski E.S. Shining light on the secreted luciferases of marine copepods: current knowledge and applications. *Photochem. Photobiol.* 2019, 95, 705-721.
3. Markova S.V., Larionova M.D., Korotov I.A., Vysotski E.S. Localization of the Catalytic Domain of Copepod Luciferases. *Life.* 2023; 13(5):1222.

**СИНИЙ ФЛУОРОФОР ИЗ СВЕЯЩЕГОСЯ
БАЗИДИОМИЦЕТА *NEONOTHOPANUS NAMBI***

Blue fluorophore from the luminous basidiomycete *Neonothopanus nambi*

*Могильная О.А. *, Ронжин Н.О., Посохина Е.Д., Бондарь В.С.*

Институт биофизики Федерального исследовательского центра
«Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской
академии наук», Красноярск, Россия

**e-mail: ol_mog@mail.ru, тел. +7 913 1859364*

Низкомолекулярные флуорофоры давно используются в молекулярной и клеточной биологии для визуализации внутриклеточных структур и биологических макромолекул. В данном случае низкомолекулярные флуоресцентные метки имеют существенные преимущества перед высокомолекулярными маркерами (например, светящимися белками), поскольку легко проникают внутрь клетки. С практической точки зрения интерес для исследователей могут представлять флуорофоры, излучающие синий свет и не столь широко представленные в аналитике, по сравнению с маркерами, флуоресцирующими в длинноволновой области спектра. При этом следует сказать, что, несмотря на обилие синтетических флуоресцентных маркеров [1], поиск новых природных низкомолекулярных флуорофоров по-прежнему остается актуальным. Перспективными природными источниками получения таких флуоресцентных соединений являются высшие грибы. В частности, базидиомицеты продуцируют соединения групп индола и кумарина, производные которых широко используются в качестве хемосенсоров и маркеров биомолекул.

Недавно в экстрактах из мицелия светящегося базидиомицета *Neonothopanus nambi* после его обработки β -глюкозидазой нами был обнаружен компонент, стимулирующий грибное свечение. Было установлено, что выявленный стимулятор является термостабильным низкомолекулярным соединением, обладающим синей флуоресценцией с максимумом эмиссии при 440 нм после возбуждения длиной волны 360 нм [2].

В настоящей работе мы установили, что обнаруженный флуоресцентный стимулятор эффективно связывается с белковыми молекулами (БСА) и клетками (дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*), частицами разных носителей (DEAE и QAE целлюлоза, гидроокислы алюминия). Во всех случаях флуорофор прочно связывался с изучаемыми

объектами, не элюировался при промывке водой и сохранял способность к флуоресценции, что подтверждается данными регистрации световой эмиссии на спектрофлуориметре Varian Cary Eclipse (Agilent Technologies, США) и просмотром образцов в режиме флуоресценции на микроскопе Axio Imager M2 (Carl Zeiss, Германия). Статистический анализ показал значительные отличия между автофлуоресценцией контрольных частиц DEAE-целлюлозы и флуоресценцией частиц с адсорбированным флуорофором. Интенсивность флуоресценции меченых частиц была более чем на порядок выше, по сравнению с контрольными частицами. У клеток дрожжей, проинкубированных с флуорофором, флуоресценция в синей области спектра была также в несколько раз выше, по сравнению с контрольными образцами. В целом, полученные результаты открывают перспективы дальнейшего изучения применимости синего флуорофора из гриба *N. nambi* в качестве новой флуоресцентной метки для молекулярной и клеточной биологии.

Литература.

1. Мартынов В. И., Пахомов А. А., Попова Н. В., Деев И. Е., Петренко А. Г. Синтетические флуорофоры для визуализации биомолекул в живых системах. *Acta Naturae*, 2016, том 8, № 4(31), с. 37-51.
2. Ронжин Н. О., Посохина Е. Д., Могильная О. А., В. С. Бондарь. Обнаружение и некоторые свойства стимулятора светозлучения базидиомицета *Neonothopanus nambi*. Доклады РАН. Науки о жизни, 2022, том 503, с. 177–182.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ С ГЕНЕТИЧЕСКИ
КОДИРУЕМЫМИ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫМИ СЕНСОРАМИ В КАЧЕСТВЕ
МОДЕЛЬНЫХ РАСТЕНИЙ В ИЗУЧЕНИИ ВЛИЯНИЯ АБИОТИЧЕСКИХ
СТРЕССОВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ**

**The use of potato plants with genetically encoded fluorescent sensors as model
plants in the study of the effects of abiotic stressors**

*Печёрина А.А.**, Димитриева А.А., Занегина Д.А., Зырянова С.С.,
Гринберг М.А., Агеева М.Н., Здобнова Т.А., Брилкина А.А., Воденеев В.А.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Россия

**e-mail: pechyorinaa@gmail.com, тел. +7 920 0355242*

Изучение механизмов действия различных стрессирующих воздействий на растения неизбежно затрагивает тему активации и работы различных сигнальных систем, их взаимодействия и влияния их на физиологические процессы, главным образом на фотосинтез и транспирацию. Химические сигналы, например, кальций активные формы кислорода, уровень pH, можно изучать с помощью растений с генетически кодируемыми флуоресцентными сенсорами. Растения с такими сенсорами называются модельными, и, как правило, они совпадают с классическими модельными растениями – табаком и арабидопсисом, однако все больше вызывает интерес использование модельных растений, важных для сельского хозяйства. Целью работы являлось создание растений картофеля с флуоресцентными сенсорами Pt-GFP и Case12 и исследование с помощью них работы кальциевой и протонной сигнальных систем при действии различных абиотических стрессоров.

Трансгенные растения картофеля получали с помощью агробактериальной трансформации геном ратиометрического pH-чувствительного сенсора Pt-GFP или Ca²⁺-чувствительного сенсора Case12. В качестве эксплантов использовали кусочки стебля, регенерацию проводили на среде Мурасиге и Скуга с 3 мг/л 6-БАП, 0,5 мг/л ИУК, селективным антибиотиком – канамицином (для Pt-GFP) или гигромицином (для Case12) и антибиотиком для элиминации агробактерий – цефотаксимом или комбинацией амоксиклава и тиментина.

Визуализацию сигналов в листьях производили с помощью установки флуоресцентного имиджинга DVS-03 (ИФТ РАН, Россия), а во всем растении - установки PlantExplorerPro+ (PhenoVation, Нидерланды).

Различные стрессирующие воздействия вызывали разный набор реакций. Нагревание всей поверхности листа приводило к защелачиванию, а затем к закислению цитозоля, но без повышения уровня кальция в зоне воздействия. Локальный нагрев листа вызывал распространение волны изменения цитозольного pH и кальция в нераздраженные области листа. Охлаждение всего листа приводило сначала к закислению, а затем к защелачиванию. Изменение pH цитозоля в случае с температурным воздействием связано с инактивацией протонных помп, возможно, посредством кальция. Засоление приводит к формированию кальциевой волны по всему растению сразу после добавления соли, однако изменения pH наблюдаются только в корне, причем они являются кальций-зависимыми. Изменение уровня кальция и pH цитозоля связано именно с натрием, а не осмотическим стрессом, создаваемым засолением.

Растения картофеля с флуоресцентными генетически-кодируемыми сенсорами являются удобными объектами и способами исследования сигнальных путей. Возможность прижизненно и в режиме реального времени проводить исследования на таких растениях выделяет их среди других способов исследования концентрации ионов.

Работа выполнена в ходе выполнения проекта НЦМУ «Центр фотоники» при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, договор № 075-15-2022-293.

Секция 5. Микроводоросли как преобразователи солнечной энергии для «зеленой» энергетики, фотобиология водных экосистем

ВЕРТИКАЛЬНОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ФОТОТРОФНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПОДВОДНОМ МЕРОМИКТИЧЕСКОМ ВОДОЕМЕ В БУХТЕ БИОФИЛЬТРОВ (БЕЛОЕ МОРЕ, КАНДАЛАКШСКИЙ ЗАЛИВ)

Vertical distribution of phototrophic microorganisms in an underwater meromictic basin in Biofilters Bay (White Sea, Kandalaksha Bay)

Агранова Е.Д.^{1}, Бастрыкина Т.В.¹, Подлесных П.Н.¹, Подобедова А.А.¹, Ключихина Д.А.¹, Тухбатуллин Д.Р.¹, Лабунская Е.А.¹, Быкова Е.А.¹, Воронов Д.А.², Краснова Е.Д.¹*

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

²Институт проблем передачи информации РАН, Москва, Россия

**e-mail: vetagrach3@gmail.com, тел. +7 929 6976474*

В окрестностях Беломорской биологической станции МГУ найдено множество меромиктических водоемов, в той или иной степени отделенных от Белого моря. Поскольку слои воды в них имеют разную плотность, циркуляция в водоеме не полная. Один из таких водоемов – бухта Биофильтров. Это ковшовая бухта с подводным желобом, в котором ниже глубины 6 м круглогодично существует вертикальная стратификация и сульфидная анокия в придонной зоне. Для изучения вертикального распределения фототрофных про- и эукариот на разной глубине водоема определяли концентрацию хлорофилла *a* и бактериохлорофилла *a* с использованием спектрофотометрии ацетоновых экстрактов из отфильтрованных микроорганизмов. Одновременно с этим определяли таксономический состав и биомассу фитопланктона. На глубине 8 м располагался слой с пигментами фикоэритрин-содержащих криптофитовых водорослей. При микроскопировании там выявлена монокультура *Rhodomonas* sp. Чуть выше, на глубине 7,5 – 7,75 м фототрофы почти полностью отсутствовали и концентрация хлорофилла *a* была незначительной. С глубины 8,25 м начиналась анаэробная зона, и в ее верхней части преобладали пигменты аноксигенных фототрофных бактерий: бактериохлорофилл *e* зеленых серных бактерий, бактериохлорофилл *a* и океонин пурпурных серных бактерий. Показатель мутности (NTU) воды, измеренный нефелометром, слабо коррелировал с

концентрацией хлорофилла *a*, но гораздо лучше – с концентрацией бактериохлорофилла *a*, корреляция нарушалась в афотической зоне, где мутность определяется нефототрофными бактериями.

Спектральный состав света над границей сероводородной зоны представлен преимущественно зеленым (42%) и желтым (20%) светом (границы полуширины спектра 527 – 600 нм). В этот диапазон попадает полоса поглощения света фикоэритрина-545 криптофитовых водорослей, окенона пурпурных серных бактерий, а также изорениератина – антенного каротиноида коричневоокрашенной формы зеленых серных бактерий.

Таким образом, пигментный состав антенн фототрофов, обитающих в зоне хемоклина подводного желоба в бухте Биофильтров, соответствует спектральному составу света в этой области, что позволяет рассматривать состав света как один из экологических факторов среды, задающих параметры экологических ниш для организмов.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант № 24-24-00008).

**КОМПЛЕКСНОЕ ПОЛУЧЕНИЕ ГИДРОФОБНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ
СОЕДИНЕНИЙ ИЗ БИОМАССЫ ПУРПУРНОЙ НЕСЕРНОЙ БАКТЕРИИ
*CEREIBACTER SPHAEROIDES***

**Simultaneous obtaining of hydrophobic bioactive compounds from biomass of
purple non-sulfur bacterium *Cereibacter sphaeroides***

Ашихмина О.О.^{1*}, Ашихмин А.А.¹, Старыгина П.А.¹,
Пашинцева А.В.^{1,2}, Цыганков А.А.¹

¹ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований
Российской академии наук», Пушкино, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

*e-mail: chuda94@yandex.ru, тел. +7(4967)732791

Представлен метод одновременного получения ряда ценных биологически активных соединений (бактериохлорофилла а, каротиноидов, убихинона, жирных кислот и липидов) из биомассы пурпурных несерных бактерий на примере *Cereibacter sphaeroides*. Было продемонстрировано, что гексан:изопропанольный способ экстракции позволяет выделить наиболее полный спектр гидрофобных соединений и сохраняет стабильность бактериохлорофилла а к воздействию кислорода воздуха и рассеянного света. Предварительное разрушение клеток не привело к значительному улучшению качества экстракции. Также установлено, что использование колоночной хроматографии низкого давления не обеспечивает разделения фракции каротиноидов от фракции убихинона Q10. Потери целевых веществ в данном случае составили 74 и 70% для бактериохлорофилла а и каротиноидов соответственно относительно их содержания в биомассе. Использование метода ВЭЖХ для разделения экстракта позволило помимо получения целевых веществ также одновременно провести анализ качественного и количественного содержания каротиноидов в используемой биомассе бактерий. Потери целевых веществ в данном варианте также сильно уменьшаются до 40 и 14% для бактериохлорофилла а и каротиноидов, соответственно. Разработанный метод комплексного получения гидрофобных соединений при использовании биомассы *Cereibacter sphaeroides*, выращенной продленным периодическим способом в хемогетеротрофных условиях, позволил получить 4,4 мг бактериохлорофилла а, 1,5 мг каротиноидов и 2,1 мг убихинона Q10 в расчете на 1 г сухой биомассы, а также фракцию жирных кислот и липидов. Биомассу после экстракции и дальнейшего

высушивания можно использовать в качестве кормовой добавки в сельском хозяйстве и для аквакультур, а надосадочную жидкость – в качестве удобрений для растений как источник ценных микро- и макроэлементов. Растворители, которые применяются в методике, могут быть регенерированы и использованы повторно. Таким образом, возможно приближение к безотходному использованию биомассы пурпурных несерных бактерий.

**ВЕРТИКАЛЬНЫЙ ПРОФИЛЬ ПИГМЕНТНОГО СОСТАВА И
ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО
АППАРАТА ФОТОТРОФНЫХ ОРГАНИЗМОВ МЕРОМИКТИЧЕСКОГО ОЗЕРА
ТРЕХЦВЕТНОЕ**

**Vertical profile of the pigment composition and functional activity of the
photosynthetic apparatus of phototrophic organisms
of the meromictic Lake Trekhtzvetnoe**

Боткина М.А.^{1}, Джафарова В.И.¹, Отставнова М.В.¹, Сидоченко Н.Д.²,
Быкова Е.А.¹, Лабунская Е.А.¹, Воронов Д.А.³, Краснова Е.Д.¹*

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

²Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы,
Москва, Россия

³Институт проблем передачи информации РАН, Москва, Россия

**e-mail: mariya-botkina@yandex.ru, тел. +7 980 7739053*

Фототрофные микроорганизмы, обитающие в водоемах на разной глубине, обладают пигментами, наиболее подходящими для улавливания света, доходящего до конкретного слоя и имеющего определенный спектральный состав. Объектом исследования было прибрежное меромиктическое озеро Трехцветное (Карельский берег Белого моря) с пресным верхним слоем, резким галоклином-хемоклином, ниже которого находится анаэробный монимолимион с высоким содержанием сероводорода. Массовое развитие зеленоокрашенных серных бактерий обуславливает ярко-зеленую окраску 20-см слоя над хемолином.

По спектрам поглощения света в ацетоновых и ацетоново-этанольных экстрактах отфильтрованных микроорганизмов с разных глубин озера мы определили пигментный состав фототрофов. На небольших глубинах отмечены максимумы поглощения при 412-414, 431-432 и 664 нм, что определяет нахождение там хлорофилла *a*. На глубине 1,5 м максимум в красной области спектра сдвигается от 664 до 660 нм, а полоса *Sore* сдвигается до 427 нм, что связано с примесью бактериохлорофилла *d*. На глубинах 1,8-2,5 м выявлены максимумы поглощения при 426-427 и 653 нм, что предполагает доминирование организмов с бактериохлорофиллом *d*. Это подтвердилось тонкослойной хроматографией: анализ спектров поглощения отдельных пятен показал наличие бхл *d* и бфео *d*. Кроме того, был обнаружен каротиноид хлоробактин, характерный для зеленоокрашенной формы бактерий

Chlorobium phaeovibrioides. Были рассчитаны концентрации преобладающих пигментов (хлорофилла *a* либо бактериохлорофилла *d*). Их распределение в толще воды сопоставили с данными по мутности среды (в NTU). Показано, что в зоне хемоклина мутность коррелирует с концентрацией бхл *d*. Под хемоклином мутность определяется бактериями, не содержащими пигменты.

В фитопланктоне миксолимниона (0 - 1,9 м) обнаружено 24 вида водорослей, относящихся к классам Bacillariophyceae (6 видов), Chrysophyceae (2), Chlorophyceae (4), Trebouxiophyceae (2), Chlorodendrophyceae (1), cf. Mamiellophyceae (1), Zygnematoophyceae (2), Dinophyceae (2), Cyanophyceae (4). Индукция флуоресценции темноадаптированных проб прибором AquaPen 110-С (Чехия) с разных горизонтов показала низкие значения Fv/Fm, которые указывают на низкую активность фотосинтеза фитопланктона во всем миксолимнионе: для 0 м – 0,20; 0,5 м – 0,25; 1 м – 0,34; 1,5 м – 0,35; 1,9 м – 0,14.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант № 24-24-00008).

**ОЦЕНКА АДАПТАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПОПУЛЯЦИИ
МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ПУТЕМ ИЗМЕРЕНИЯ ОЛІР КРИВЫХ
ОТДЕЛЬНЫХ КЛЕТОК**

**Assessment of adaptation changes in microalgae population by measuring OLP
curves of individual cells**

Волгушева А.А.^{1}, Конюхов И.В.¹, Антал Т.К.²*

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

²Псковский государственный университет, Псков, Россия

*e-mail: volgusheva_alena@mail.ru, тел. +7 495 9391963

Внутрипопуляционная гетерогенность микроорганизмов широко распространена в природе и является адаптационным механизмом, приводящим к выживанию популяции при действии различных неблагоприятных факторов (1, 2). Так, между клетками одной популяции *Chlamydomonas reinhardtii* выявлены различия в скорости роста при благоприятных условиях (3). Зарегистрированы физиологические и морфологические отличия между отдельными клетками разных видов водорослей в условиях недостатка азота и фосфора (4). В популяции *Chlorella sorokiniana* выявлено ~3% клеток обладающих высокой устойчивостью к токсиканту 2,3',4,4',6-пентахлорбифенилу (5).

Изучение адаптационных механизмов у микроводорослей в основном проводят на суспензионных культурах, т.е. используя усредненный ответ популяции в ответ на стресс. Роль гетерогенности популяции практически не изучена вследствие сложности регистрации параметров состояния отдельных клеток.

Одним из ключевых индикаторов физиологического состояния фототрофных организмов является фотосинтетическая активность, которая регистрируется флуоресцентными методами, в частности, с помощью кривых световой индукции флуоресценции хлорофилла (ОЛР-кривых).

В данной работе была изучена гетерогенность популяции *C. reinhardtii*, при токсическом действии кадмия, путем анализа ОЛР-кривых, измеренных на индивидуальных клетках водорослей с помощью флуориметра, разработанного на кафедре биофизики биологического факультета МГУ (6). Оценивали распределение следующих ключевых параметров: максимального квантового выхода фотохимического преобразования энергии в ФС2, квантового выхода электронного

транспорта и отношения активных реакционных центров к поглощенному свету.

Адаптация первичных реакций фотосинтеза микроводорослей к действию кадмия сопровождалась появлением в культуре *C. reinhardtii* двух сравнимых по вкладу фракций клеток. Клетки первого типа (40% от общего числа), характеризовались умеренной фотохимической активностью и малым размером антенны ФС2, по сравнению с контрольными клетками. Клетки второго типа (55%) обладали низкой фотохимической активностью и схожим размером антенны ФС2, по сравнению с контролем. Эти данные позволяют предположить развитие двух адаптационных стратегий к действию кадмия. Один из которых связан с уменьшением размера светособирающей антенны, другой – с переходом ФС2 в малоактивное состояние.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-24-00353).

Литература.

1. Магданова Л. А., Голясная Н. В. Микробиология, 82 (1), 3–13 (2013). DOI: 10.7868/S0026365613010072.
2. Wang X., Wang W. X. Environ Pollut, 319, 121013 (2023). DOI: 10.1016/j.envpol.2023.121013.
3. Damodaran S. P. et al. PLoS One., 10 (3), e0118987 (2015). DOI: 10.1371/journal.pone.0118987.
4. Yan P. et al. Sci Total Environ., 754, 142076 (2021). DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.142076.
5. Volgusheva A. A. et al. Photochem. Photobiol., 99 (4), 1106–1114. (2023). DOI: 10.1111/php.13771.
6. Kuznetsov A. G. et al. Oceanology, 61 (6), 1055–1063 (2021). DOI: 10.1134/S0001437021060278.

ФОТОВЫДЕЛЕНИЕ ВОДОРОДА *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII* В УСЛОВИЯХ НЕДОСТАТКА СЕРЫ, АЗОТА И УГЛЕРОДА И РЕАЛИЗУЕМЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОДАВЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ ФС2

Hydrogen production by *Chlamydomonas reinhardtii* under conditions of sulfur, nitrogen and carbon deficiency and the realized mechanisms of suppression of FSII activity

Гречаник В.И.¹, Цыганков А.А.^{1}*

Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»,
Пушино, Россия

**e-mail: ttt-00@mail.ru*

Адаптация фотоавтотрофных культур *Chlamydomonas reinhardtii* к недостатку элемента питания приводит к понижению активности фотосистемы 2 (ФС2), скорость дыхания становится выше скорости фотосинтеза, и культуры переходят в анаэробные условия, в которых и синтезируется гидрогеназа. После ее синтеза начинается выделение водорода, которое длится несколько дней. В литературе имеются сообщения, что в снижении активности ФС2 могут участвовать несколько регуляторных механизмов: накопление Q_b невосстанавливающих центров, перевосстановление пула пластохинонов, накопление закрытых реакционных центров, появление стабильно восстановленной формы Q_A , state transitions, ксантофиловый цикл, деградация D1 белка, фотоингибирование (окислительный стресс), накопление аскорбата с последующим использованием аскорбата в качестве донора электронов вместо воды. При этом разные авторы указывают один-два механизма ингибирования фотосистемы 2.

Согласно нашим исследованиям, адаптация микроводорослей к серному и азотному голоданию приводит к ингибированию активности ФС2, но механизмы ингибирования могут быть различными в зависимости от скорости падения содержания кислорода. Эта скорость определяется соотношением фотосинтеза и дыхания в фазе поглощения кислорода. Мы показываем, что можно менять эту скорость комбинируя разные интенсивности освещения при адаптации культур к голоданию. Таким образом, моделируя условия, в которых при обоих типах голодания активность ФС2 падает с разной скоростью, показан ответ фотосинтетического аппарата на недостаток элементов питания в условиях аноксии.

В результате изучения условий адаптации культур к высоким и низким интенсивностям света при недостатке азота, во всех экспериментах наблюдалось снижение активности ФС2 за счет перевосстановления пула пластохинонов и разобщение ВОК и РЦ ФС2, но в разное время и с разной интенсивностью. Сравнение поведения ФС2 при недостатке серы и недостатке азота показывает, что при одинаковых световых режимах общей чертой обоих стрессов является перевосстановленность пула пластохинонов. Разобщение ВОК и ФС2 наблюдалось при обоих типах голодания, но в разных режимах. При этом активация вилоксантинового цикла имела место только в случае недостатка серы. Можно сделать вывод, что недостаток серы и недостаток азота проявляются в реализации разных механизмов регуляции активности ФС2, за исключением перевосстановленности пула пластохинонов, который является универсальным регуляторным механизмом фотосинтетического аппарата микроводорослей.

Работа поддержана грантом РНФ 19-14-00255П.

**АНАЛИЗ ПИГМЕНТНОГО СОСТАВА ФОТОТРОФНЫХ ОРГАНИЗМОВ
МЕРОМИКТИЧЕСКОГО ОЗЕРА ЕЛОВОЕ**

**Analysis of the pigment composition of phototrophic microorganisms of the
meromictic lake Elovoe**

Джафарова В.И.^{1}, Боткина М.А.¹, Отставнова М.В.¹, Быкова Е.А.¹,
Лабунская Е.А.¹, Воронов Д.А.³, Краснова Е.Д.¹*

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

²Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы,
Москва, Россия

³Институт проблем передачи информации РАН, Москва, Россия

**e-mail: vdzhafarova04@mail.ru, тел. +7 985 2386916*

В результате постепенного отделения заливов от Белого моря существует множество водных объектов, находящихся на разных стадиях этого процесса. Озеро Еловое полностью отделено от моря и состоит из пресного поверхностного слоя, более нижнего соленого слоя и анаэробной богатой сероводородом зоны, находящейся ниже хемоклина (глубина 2,9 м). Из-за разной плотности слои воды не перемешиваются. Градиент абиотических параметров, а также различия в спектральном диапазоне света, который проходит на разную глубину, влияют на наличие определенных пигментов у групп организмов, подстраивающих свой фотосинтетический аппарат для улавливания света в конкретном слое, и на их распределение по водоему.

Для оценки пигментного состава фототрофов на разной глубине определяли спектры поглощения света в пробах природной воды, в ацетоновых экстрактах, и разделение экстракта методом тонкослойной хроматографии с последующей спектрофотометрией отдельных цветовых полос. В поверхностном слое воды до глубины 2 м отмечены максимумы поглощения 430-432 нм, 472-474 нм, 612-615 нм и 664 нм, что указывает на наличие хлорофилла (Хл) *a* и β -каротина. В зоне 2-2,9 м появляются пики 463-468 нм, а максимум в красной части спектра сдвигается на 654-657 нм, что говорит о наличии бактериохлорофиллов (Бхл) *d* и *e* в смеси с Хл *a*. На границе сероводородной зоны (3 м) выявлены максимумы поглощения 408-410 нм, 427-429 нм, 467-468 нм, 605-606 нм и 654-655 нм, что свидетельствует о наличии смеси коричнево- и зеленоокрашенных зеленых серобактерий, содержащих Бхл *d* и *e*. Тонкослойная хроматография подтвердила наличие здесь β -каротина, Хл *a*, Бхл *d* и *e* и

бактериофеофитина d , а также выявлен хлоробактин зеленоокрашенных зеленых серобактерий. На горизонтах 2,7 м и 2,8 м идентифицирован фикоцианин-С с максимумом поглощения на 644 нм, нередко встречающийся у цианобактерий и Cryptophyta. Микроскопирование проб подтвердило наличие криптофлагеллят. В аэробной зоне до глубины 2,9 м и в анаэробной зоне (3–4 м) и сопоставлены с показателем мутности, измеренным нефелометром (NTU). В аэробной зоне и в зоне редокс-перехода мутность воды менялась синхронно с концентрацией Хл a и Бхл d / e ; в анаэробной зоне мутность была высокой из-за нефототрофных бактерий.

Таким образом, в хемоклине озера Еловое над редокс-переходом обитают криптофлагелляты с С-фикоцианином, способные использовать красный свет около 644 нм, и зеленые серобактерии, улавливающие дальний красный свет около 720 нм. Спектральный диапазон света, достигающего хемоклина озера Еловое, преимущественно включает в себя желто-оранжевую и красную части спектра, что согласуется с наблюдениями регулярного доминирования данных организмов в хемоклине озера Еловое.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант № 24-24-00008).

**ФОТОСИНТЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И СОСТАВ ПИГМЕНТОВ
ПРОДУЦЕНТОВ ОЗЕРА КИСЛО-СЛАДКОЕ**

**Photosynthetic activity and pigment composition of producers
in the lake Kislo-Sladkoe**

Калашникова Т.И.^{1}, Потапова Е.В.¹, Сидоченко Н.Д.², Лабунская Е.А.¹,
Быкова Е.А.¹, Воронов Д.А.³, Краснова Е.Д.¹*

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

²Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы,
Москва, Россия

³Институт проблем передачи информации РАН, Москва, Россия

**e-mail: germione.unicorn@gmail.com, тел. +7 985 6834411*

Извилистый берег Белого моря и его послеледниковое поднятие привели к отделению некоторых заливов, превратив их в полуизолированные стратифицированные водоемы. В таких водоемах на дне сохраняется морская вода, а верхний слой становится опресненным. Из-за разницы плотностей эти слои не перемешиваются, создавая градиенты солености, температуры и содержания кислорода, а у дна возникает богатая биогенными элементами анаэробная зона. Один из таких водоемов – озеро Кисло-Сладкое. Это соленая лагуна, получающая морскую воду при сизигийных приливах. Звено продуцентов в этом водоеме представлено фито- и бактериопланктоном, а также матами нитчатых водорослей, представляющих собой консорциум фото- и гетеротрофных организмов с эдификатором – зеленой водорослью *Cladophora* sp. Пигментный состав консорциума нитчатки, а также фитопланктона с разной глубины водоема оценивали, используя спектры поглощения ацетоновых экстрактов и тонкослойную хроматографию на силуфоле, экстракты фикобилинов получали по методике [1]. Функциональную активность фотосинтетического аппарата анализировали методом индукционных кривых быстрой флуоресценции хлорофилла, регистрацию проводили прибором AquaPen-C AP 100-C. Вертикальный профиль концентрации хлорофилла *a* в толще воды в июле 2024 г. характеризовался наличием погруженного максимума на глубине 2,3-2,5 м в области хемоклина (границы аэробной и сероводородной зон). Хроматографический анализ пигментов из этого слоя выявил присутствие аллоксантина. Спектрофотометрический анализ показал присутствие фикоэритрина 545. Эти пигменты – маркеры криптоноад. Причина –

цветение криптофитовой водоросли *Rhodomonas* sp., который образует над границей анаэробной зоны прослойку воды, окрашенной в красный цвет. Фотосинтетическая активность в этом слое максимальна по столбу воды. В верхней части водной толщи этих криптофитовых нет, и фотосинтетическая активность фитопланктона гораздо меньше, вероятно из-за фотоингибирования при высокой интенсивности освещения.

На глубине 1,5 м зарегистрирован бхл *e*, характерный для зеленых серных бактерий. Это анаэробные бактерии, и их присутствие в аэробной зоне, возможно, связано с вертикальным транспортом за счет газовых везикул.

Спектрофотометрический анализ матов нитчатых водорослей показал наличие хлорофилла *a* и пигментов пурпурных серных бактерий: бхл *a* и, предположительно, окенона и спириллоксантина. Пурпурные серные бактерии появляются в консорциуме нитчатки при отмирании ее фрагментов.

В слое цветения *Rhodomonas* sp. спектральный диапазон проникающего солнечного света – от 500 до 700 нм. Высокая эффективность фотосинтеза здесь, предположительно, достигается благодаря совпадению максимумов поглощения основных антенных пигментов *in vivo* со спектральным диапазоном проникающего солнечного света.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант № 24-24-00008).

Литература.

1. Thoisen C, Hansen BW, Nielsen SL (2017) MethodsX, 4: 209-213.

**СПЕКТРАЛЬНЫЙ СОСТАВ СВЕТА КАК СЕЛЕКТИВНЫЙ ФАКТОР,
ОПРЕДЕЛЯЮЩИЙ ДОМИНИРОВАНИЕ КОРИЧНЕВО- ИЛИ
ЗЕЛЕНООКРАШЕННОЙ ФОРМ БАКТЕРИЙ *CHLOROBIVM PHAEOVIBRIOIDES* В
СТРАТИФИЦИРОВАННЫХ ВОДОЕМАХ НА ПОБЕРЕЖЬЕ БЕЛОГО МОРЯ**

**Spectral composition of light as a selective factor determining the dominance of
green or brown strains of *Chlorobium phaeovibrioides* in stratified water bodies on
the coast of the White Sea**

Константинова С.В.^{1*}, Конпель Л.А.¹, Лабунская Е.А.¹, Лобышев В.И.²,
Лунина О.Н.³, Воронов Д.А.⁴, Краснова Е.Д.¹

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Биологический факультет, Москва, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Физический факультет, Москва, Россия

³Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского,
ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

⁴Институт проблем передачи информации РАН, Москва, Россия

*e-mail: s_svetik@mail.ru, тел. +7 916 5951935

На побережье Белого моря из-за послеледникового поднятия берега образовалось множество прибрежных водоемов, в разной степени изолированных от моря, с сульфидной аноксией. На границе сероводородной зоны (в хемоклине) нередко образуется высокоплотное сообщество их зеленых серных бактерий *Chlorobium phaeovibrioides*, имеющих две генетически близкие формы: зелено- и коричневоокрашенную (ЗФ и КФ), различающиеся пигментным составом. КФ содержит бактериохлорофилл (бхл) *e* и каротиноид изорениератин, ЗФ – бхл *d* и каротиноид хлоробактин. Обе формы выделяются в культуру из всех водоемов изоляционного ряда, однако на ранних стадиях изоляции доминирует КФ, в полностью изолированных – ЗФ, а в водоемах, занимающих промежуточное положение, совместно обитают ЗФ и КФ. Мы предполагаем, что спектральный состав света в зоне обитания *Ch. phaeovibrioides* может являться селективным фактором, определяющим доминирование ЗФ или КФ. Для проверки этой гипотезы в разных водоемах спектрометром QE65 Pro (Ocean Optics, USA) был измерен спектр света, дошедшего до зоны с высокой плотностью бактерий. На ранних стадиях изоляции в хемоклине преобладает зеленая часть спектра, на поздних – красная. Также были получены спектры поглощения света монокультурами ЗФ и КФ, выделенными из разных водоемов *in vivo*.

Спектры поглощения каждой из форм сопоставили со спектральным диапазоном в хемоклине разных водоемов и вычислили долю перекрытия с коротковолновой, длинноволновой полосами поглощения бактерий и со спектром в целом. В слабо изолированных водоемах у КФ площадь перекрытия коротковолнового пика существенно больше, чем у ЗФ, благодаря изорениератину. При уменьшении доли перекрытия коротковолнового пика в сообществе происходит смена доминантов. В водоемах с преобладанием красной части спектра доминируют ЗФ. На спектрофлуориметре Fluoromax-4Р были получены спектры возбуждения флуоресценции пигментов в клетках *in vivo* при регистрации на длине волны 767 нм. КФ эффективнее возбуждаются коротковолновым светом с длинами волн 400, 440, 465 и 535-565 нм. Последний интервал соответствует поглощению света изорениератином и преобладает в хемоклине слабо изолированных водоемов. Это обстоятельство может объяснять доминирование в них КФ и ее исчезновение в водоемах на поздней стадии изоляции.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант № 24-24-00008).

**ИЗМЕНЕНИЯ СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА СВЕТА В ИЗОЛЯЦИОННОМ РЯДУ
ВОДОЕМОВ, ОТДЕЛЯЮЩИХСЯ ОТ БЕЛОГО МОРЯ:
ПРИЧИНЫ И ПОСЛЕДСТВИЯ**

**Changes in the spectral composition of light in an isolated series of water bodies
separated from the White Sea: causes and consequences**

Лабунская Е.А.^{1}, Лобышев В.И.¹, Соколовская Ю.Г.¹,
Воронов Д.А.², Краснова Е.Д.¹*

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

²Институт проблем передачи информации РАН, Москва, Россия

**e-mail: styxelenalab@gmail.com, тел. +7 925 4880833*

На побережье Белого моря под действием послеледникового поднятия суши формируются прибрежные меромиктические водоемы с сульфидной аноксией в придонной зоне. Ряд водоемов, находящихся на разных стадиях изоляции от моря, есть в окрестностях Беломорской биостанции МГУ. Разные слои таких водоемов различаются по условиям среды, и в них формируются экологические сообщества с разным видовым составом, в том числе фототрофных микроорганизмов. Для фототрофов очень важен спектральный состав света в воде. Цель данной работы: сопоставление спектров проходящего света с пигментным составом фототрофного сообщества в стратифицированных водоемах на побережье Белого моря. В марте-апреле и июне-июле 2024 г. в шести прибрежных меромиктических водоемах, в двух пресных озерах и на нескольких морских станциях в проливе Великая Салма (Кандалакшский залив Белого моря) спектрометром QE65 Pro (OceanOptics, USA) измеряли спектральный состав света, а также погружным квантометром, откалиброванным в мкмоль квантов/м²*с, измеряли интенсивность светового потока на разной глубине. Пигментный состав фототрофов охарактеризован методом спектрофотометрии ацетоновых экстрактов и проб природной воды, отобранной с разных горизонтов.

По разнице в спектрах проходящего света с учетом интенсивности света на разной глубине послойно рассчитаны спектры ослабления света. В меромиктических водоемах с пресным миксолимнионом окрашенная фракция растворенного органического вещества ослабляет коротковолновую часть спектра, оставляя в хемоклине менее 4% синего, зеленого и желтого света суммарно. Также во всех водоемах зарегистрировано ослабление длинноволновой части спектра за счет

поглощения света водой. Вклад микроорганизмов в модификацию спектральной кривой наиболее заметен в цветных прослойках воды с массовым развитием фототрофных водорослей и бактерий возле границы аэробной и анаэробной зон: спектры ослабления света, рассчитанные для этих зон, содержат пики, соответствующие пигментам доминирующих в них фототрофов. Состав пигментов в зоне хемоклина подчиняется закономерности: для менее изолированных водоемов характерны красные прослойки с максимальным поглощением пигментов *in vivo* в области 500 – 560 нм, что согласуется с преобладанием здесь зелено-желтого света. Наиболее изолированное озеро обладает зеленой прослойкой, обусловленной бактериохлорофиллом *d* зеленых серных бактерий, имеющим максимум поглощения 720 нм, что также согласуется с диапазоном проходящего света. Два водоема занимают промежуточное положение и содержат фототрофные бактерии, характерные как для более, так и для менее изолированных водоемов. Кроме того, в одном из них над хемоклином в массе развиваются жгутиконосцы с С-фикоцианином с максимумом поглощения в желто-оранжевом диапазоне, характерном для этого слоя в данном водоеме.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант № 24-24-00008).

**STATE TRANSITIONS – АДАПТАЦИОННЫЙ МЕХАНИЗМ ПРИ ПОВЫШЕНИИ
ОСВЕЩЕННОСТИ у *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII***

**State transitions as a mechanism of adaptation to increased illumination
*Chlamydomonas reinhardtii***

Рыжих Ю.С., Ветошкина Д.В.*

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное
подразделение ФИЦ Пущинский научный центр биологических
исследований РАН, Пущино, Россия

*e-mail: vetoshkina_d@mail.ru

Микроводоросли, способные к осуществлению фотосинтеза, постоянно подвергаются значительным колебаниям уровня освещенности за счет неравномерного распределения света в толще воды. Постоянные изменения освещенности могут снижать эффективность ассимиляционных процессов и прирост биомассы. В ходе эволюции у микроводорослей появились различные адаптационные механизмы, в том числе регулирующие способность поглощения квантов света на уровне светособирающей антенны фотосистемы 2. Одним из таких механизмов является процесс state transitions, который заключается в перераспределении светособирающего комплекса фотосистемы 2, ССК2, между двумя фотосистемами. Необходимым этапом для протекания state transitions является активация STT7-киназы и фосфорилирование белков, входящих в состав ССК2, что в свою очередь приводит к миграции этих комплексов от ФС2 к ФС1. Механизм активации/ингибирования STT7-киназы при действии стрессовых факторов в настоящее время изучен не полностью. Известно, что в активации этого фермента участвуют цистеиновые остатки, однако компоненты, которые приводят к их окислению/восстановлению до сих пор обсуждаются.

В данной работе исследовано влияние повышенной освещенности (500 мкмоль квантов/м²с) на state transitions у микроводорослей *Chlamydomonas reinhardtii*. Для проведения исследования использовали культуру *Chlamydomonas reinhardtii* CC124 и штамм с заблокированным синтезом STT7-киназы. Клетки выращивали в автотрофных условиях при постоянном освещении белым светом интенсивностью 85-100 мкмоль квантов м⁻²с⁻¹, продувании 2% CO₂, температуре 25°C до экспоненциальной фазы роста. Для оценки протекания state transitions проводили измерение низкотемпературной флуоресценции хлорофилла *a* и определяли соотношения флуоресценции хлорофилла ФС1 к

флуоресценции хлорофилла ФС2 (F_{715}/F_{685}). Для перевода клеток в состояние 2 культуру освещали ближним красным светом низкой интенсивности, для перевода в состояние 1 культуру освещали дальним красным светом в присутствии 10 мкМ DCMU (3-(3,4-дихлорфенил)-1,1-диметилмочевина).

В ходе работы было показано, что кратковременное повышение освещенности до 500 мкмоль квантов/м²с у *Chlamydomonas reinhardtii* приводит к возрастанию протекания state transitions, который в этих условиях является, по-видимому, основным фотопротекторным механизмом. Также значительно возрастает доля светособирающих комплексов, способных к миграции. При освещении светом интенсивностью 1000 мкмоль квантов/м²с наблюдали ингибирование перехода клеток из состояния 2 в состояние 1, то есть, ингибирование возвращения антенны к ФС2, что также может служить защитным механизмом в этих условиях.

Многokrратно показано, что повышение освещенности приводит к возрастанию содержания активных форм кислорода в клетках. Ранее высказывались предположения о том, что пероксид водорода при повышении освещенности может влиять на цистеиновые остатки STT7 киназы, приводя к ингибированию ее активности. Добавка пероксида водорода к клеткам *C. reinhardtii* при инкубации на низком свете вызывала инициацию state transitions, что схоже с эффектом повышенной освещенности. При добавке 5 мМ пероксида водорода увеличивалось соотношение F_{715}/F_{685} . На клетки с заблокированным синтезом STT7-киназы добавка пероксида водорода не оказывала влияния. Таким образом, добавка пероксида водорода в выбранных концентрациях оказывала влияние на state transitions, схожее с воздействием повышенной освещенности, 500 мкмоль квантов/м²с. Таким образом, в работе впервые показана регуляторная роль пероксида водорода в процессе state transitions.

**ИЗУЧЕНИЕ ТОЛЕРАНТНОСТИ *RHODOMONAS* SP. ИЗ ЛАГУНЫ
НА ЗЕЛЕНОМ МЫСЕ К СЕРОВОДОРОДУ**

**The study of tolerance of *Rhodomonas* sp. from the lagoon on the Green cape to
hydrogen sulfide**

Сидоченко Н.Д.^{1}, Лабунская Е.А.², Иванова Д.А.², Воронов Д.А.³,
Маторин Д.Н.², Краснова Е.Д.²*

¹Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы,
институт экологии, Москва, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, Москва, Россия

³Институт проблем передачи информации РАН, Москва, Россия

*e-mail: 1132236694@rudn.ru, тел. +7 920 1642409

Лагуна на Зеленом Мысе – полуизолированный стратифицированный водоем, отделившийся от Белого моря, в придонной зоне лагуны существует сульфидная аноксия, на границе которой развивается популяция криптонад *Rhodomonas* sp, образующих очень высокую биомассу [1]. Значения концентрации сероводорода, зарегистрированные в слоях водоемов с цветением криптофитовых водорослей *Rhodomonas*, не превышают 0.05–0.4 мг/л [2], однако в лагуне на Зеленом мысе ниже слоя с цветением *Rhodomonas* sp. концентрация достигает 12.6 мг/л [3].

В связи с этим актуальным является определение чувствительности *Rhodomonas* sp. из лагуны на Зеленом мысе к сероводороду.

Проба воды из хемоклина была разведена до концентрации *Rhodomonas* sp. 25 млн кл/л, и к ней добавляли небольшие порции воды с высоким содержанием сероводорода из придонного слоя оз. Трехцветного. По окончании эксперимента в пробу добавляли ацетат цинка для фиксации H₂S и определяли его концентрацию. Значения концентрации H₂S в опытах составили 2,3; 8; 18; 44 и 60 мг/л. Для характеристики физиологического состояния клеток *Rhodomonas* sp. использовали индукционные кривые быстрой флуоресценции и параметры JР теста, которые регистрировали с помощью флуориметра AquaPen-C AP 100-C в соответствии с Strasser et al., 2004 [4].

Концентрация 2,3 мг/л незначительно снижала квантовый выход ФС II, не оказывая сильного влияния на индукционную кривую, тогда как 8 мг/л H₂S уже значительно снижала фазу О-Ј. Увеличение концентрации до 18 мг/л приводило к изменениям, характерным для нарушения потока

электронов от ФС II в пул хинонов, а при 44 и 62 мг/л наступала полная редукция PQ-пула и возрастало нефотохимическое тушение.

Таким образом, тяжелый стресс клетки микроводорослей *Rhodomonas sp.* испытывают при 44 и 60 мг/л, что значительно выше концентраций H_2S , характерных для зоны хемоклина и анаэробной зоны водоемов, в которых встречается *Rhodomonas sp.*

В дальнейшем планируется оценить способность *Rhodomonas sp.* к восстановлению после воздействия H_2S .

Литература.

1. Krasnova E.D. Ecology of meromictic lakes of Russia. 1.Coastal marine waterbodies. Water Resources, 48(3):427–438, 2021.
2. Krasnova, E.D., Matorin, D.N., Belevich, T.A. et al. The characteristic pattern of multiple colored layers in coastal stratified lakes in the process of separation from the White Sea. J. Ocean. Limnol. 36, 1962–1977 (2018). <https://doi.org/10.1007/s00343-018-7323-2>.
3. Лосюк, Г.Н., Кокрятская Н.М., Краснова Е.Д. Сероводородное заражение прибрежных озер на разных стадиях изоляции от Белого моря // Океанология, 61(3), 2021: 401–412. – DOI 10.31857/S003015742102012X.
4. Strasser R.J., Tsimilli-Michael M., Srivastava A. (2004) Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: Advances in Photosynthesis and Respiration (Papageorgiou G., Govindjee eds.). Chlorophyll a Fluorescence: a Signature of Photosynthesis. – Springer, Dordrecht, The Netherlands, p. 321–362.

**ГИПЕРСПЕКТРАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ МОНИТОРИНГА ЛАБОРАТОРНЫХ
И ПРОМЫШЛЕННЫХ КУЛЬТУР МИКРОВОДОРОСЛЕЙ**

**Advanced spectral imaging as a promising approach to monitoring of algal
biomass for environmental and biotechnological applications**

Соловченко А.Е.

Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,
Москва, Россия

e-mail: solovchenkoa@my.msu.ru

Ключевые слова: спектральные изображения, дистанционное зондирование, проксимальное зондирование, хлорофилл, биомасса, повреждения, стресс.

Для решения задач биотехнологии – обеспечения эффективной работы установок для промышленного выращивания микроводорослей необходим постоянный контроль накопления биомассы и состояния культуры. Для экспериментальных установок и небольших культивационных систем эту задачу можно решить традиционными лабораторными методами (например, гравиметрически). Однако в случае мониторинга больших культивационных систем эта цель достижима только с помощью неинвазивных методов, позволяющих оперативно охватывать количественным мониторингом большие территории. Ярким примером таких методов является спектральная визуализация (получение и анализ изображений) отражательных свойств поверхности водоемов и (или) промышленных культур. В настоящее время доступно несколько вариантов визуализации, использующих спутниковые, авиационные и беспилотные платформы, а также разные методы обработки изображений (анализ в терминах вегетационных индексов либо с привлечением алгоритмов машинного обучения).

Следует отметить, что спектральные методы, первоначально разработанные для дистанционного зондирования крупных водоемов на больших расстояниях (спутниковое и авиационное зондирование), в настоящее время все чаще используются для мониторинга фитопланктона в природных экосистемах и крупномасштабных культур микроводорослей в открытых водоемах и в закрытых фотобиореакторах. Подобно высокопроизводительному фенотипированию, которое в настоящее время занимает центральное место в физиологии растений, ускоренной селекции и точном земледелии, спектральная визуализация привлекает все большее внимание в биотехнологии микроводорослей и экомониторинге. Её мощь

заключается в автоматизированном, быстром и неинвазивном сборе больших массивов данных и их оперативной обработке методами машинного обучения (ML). К преимуществам спектральной визуализации относятся доступность по цене, высокая информативность и техническая простота.

В докладе кратко представлены методы визуализации, используемые в настоящее время в исследованиях водорослей, при этом основное внимание уделяется спектральной визуализации. Представлены предпосылки и биофизические основы дистанционного зондирования сообществ и искусственных монокультур водорослей. Подробно рассматриваются методы извлечения смысловой информации из спектральных изображений для мониторинга накопления биомассы и целевых метаболитов, «цветения», состояния культур. Особое внимание было уделено современным приложениям машинного обучения для обработки изображений и спектральных данных, позволяющим получить полезную информацию о состоянии водорослей в природных экосистемах и искусственных культивационных системах.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (гранты 21-74-20004, 23-44-00006).

**ИЗУЧЕНИЕ РАЗЛИЧИЙ В РЕГУЛЯЦИИ БИОСИНТЕЗА БХЛ А У
C. SPHAEROIDES И *R. VISAKHAPATNAMENSE* НА ОСНОВЕ ИХ ГЕНОМОВ**

**Studying differences in the regulation of Bchl *a* biosynthesis in *C. sphaeroides* and
R. visakhapatnamense based on their genomes**

Старыгина П.А.^{1*}, Пащинцева А.В.^{1,2}, Ашихмина О.О.¹,
Намсараев З.Б.³, Цыганков А.А.¹

¹ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований
Российской академии наук», Пушкино, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

³НИЦ «Курчатовский Институт», Москва, Россия

*e-mail: staryginapolina@yandex.ru, тел. +7 902 7357346

Пурпурные несерные бактерии (ПНСБ) способны к аноксигенному фотосинтезу за счет бактериохлорофилла *a* (Бхл *a*). Благодаря своим фотофизическим свойствам Бхл *a* применяется в качестве сырья для фотосенсибилизаторов в фотодинамической терапии онкологических заболеваний [1].

Ранее в лаборатории биотехнологии и физиологии фототрофных организмов ИФПБ РАН был разработан метод интенсивного культивирования бактерии *Cereibacter (C.) sphaeroides* ВКМ В-3534D для получения большого количества Бхл *a* [2]. Данная бактерия обладает высокой скоростью роста и устойчива к высоким концентрациям веществ, содержащихся в питательной среде, однако синтез пигмента подавляется низкими концентрациями кислорода, что требует жесткого контроля pO_2 при культивировании. Известно, что такие регуляторные механизмы существуют у всех ПНСБ, но при этом синтез Бхл *a* в аэробных условиях возможен у представителей рода *Rhodovulum (R.)* [3]. К сожалению, бактерии этого рода растут медленно, что снижает их биотехнологический потенциал. Цель данной работы – изучить различия в регуляции синтеза Бхл *a* у *C. sphaeroides* ВКМ В-3534D и *R. visakhapatnamense* ВКМ В-3841D на основе их геномов.

Секвенирование образцов проводилось по технологии Illumina. Сборка *de novo* и оценка качества производилась согласно [4] с использованием Unicycler, скэффолды созданы с использованием MeDuSa. Аннотация сборки проведена в Prokka. В результате получены сборки *C. sphaeroides* и *R. visakhapatnamense*, состоящие из 179 и 71 контига соответственно. Данные контиги были объединены в 23 и 13

скэффолдов. С помощью автоматической аннотации всего идентифицировано 4310 и 4194 белка. Найдены и полностью аннотированы кластеры фотосинтетических генов данных бактерий. У *C. sphaeroides* он состоит из 43 последовательно расположенных белков, при этом у *R. visakhapatnamense* кластер разделен на две части, удаленные друг от друга примерно на 300 тыс. п.о. и состоит из 41 белка. У *R. visakhapatnamense* обнаружен ген, располагающийся перед геном *acsF*, кодирующим циклазу монометилового эфира магний-протопорфирина IX, на 71% идентичный белку *bciE* *C. sphaeroides*, и вероятно, являющийся дополнительной субъединицей фермента, что ранее не было отмечено в литературе. Кроме того, последовательности проанализированы на наличие в них сайтов связывания фактора транскрипции PpsR, который является аэробным репрессором генов биосинтеза Бхл *a* [5]. Обсуждается возможность генетической модификации *C. sphaeroides*, позволяющая выращивать эту бактерию при умеренных концентрациях кислорода и одновременно синтезировать большие количества Бхл *a*.

Литература.

1. doi: 10.7150/thno.87363.
2. Патент № 2774963 С1 Российская Федерация, МПК С12Р 17/16. Способ культивирования пурпурных несерных бактерий с высоким содержанием бактериохлорофилла *a* : № 2021125164.
3. doi:10.1046/j.1432-1327.1998.2570185.x.
4. doi: 10.12688/f1000research.13598.1.
5. doi: 10.1111/J.1365-2958.2005.04655.X.

**МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА ДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ СТРЕССА
НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ**

**Mathematical methods of analyzing the action of stress factors
on photosynthetic apparatus of microalgae**

*Хрущев С.С.**, Червицов Р.Н., Конюхов И.В., Плюснина Т.Ю.,
Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Биологический факультет, каф. биофизики, Москва, Россия

*e-mail: styx@biophys.msu.ru, тел. +7 495 9390289

Тяжёлые металлы оказывают неблагоприятное действие на клетки микроводорослей. В работе исследовано изменение параметров фотосинтетического аппарата (ФСА) лабораторной культуры *Chlorella vulgaris* в первые несколько часов после добавления CdSO_4 или $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. В процессе роста культуры проводился непрерывный мониторинг состояния ФСА. С помощью автоматической системы пробоотбора и флуориметра SMART каждый час проводилась регистрация кривых индукции флуоресценции при нескольких интенсивностях действующего света, а также кривых затухания флуоресценции после освещения. Параллельно проводилась регистрация спектров поглощения культуры в видимом диапазоне с помощью спектрофотометра на базе спектрометра Ocean Optics USB-2000. Дополнительно непосредственно перед добавлением токсиканта и через 4 ч после добавления отбирали пробы культуры и инкубировали их с добавлением ингибитора электронного транспорта через фотосистему 2 (ФС2) диурона. Кривые индукции флуоресценции для инкубированных с диуроном проб регистрировали при нескольких интенсивностях света с помощью флуориметра МЕГА-25.

Для анализа индукционных кривых, полученных без добавления диурона, использовали метод спектральной мультиэкспоненциальной аппроксимации [1] и предложенный Р. Штрассером JIP-тест [2]. Снижение размерности пространства признаков JIP-теста с помощью метода главных компонент и таких методов, как t-SNE и UMAP показало, что добавление 20 и 50 мкМ $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ и 50 мкМ CdSO_4 уже через 2 ч инкубации приводит к существенным изменениям параметров ФСА.

Индукционные кривые, зарегистрированные после инкубации с диуроном, использовали для оценки изменения гетерогенности светособирающей антенны ФС2 и активности кислородвыделяющего комплекса (КВК). Для этого проводилась оценка параметров

математической модели ФС2, предложенной Плюсониной с соавторами [3]. Показано, что добавление токсикантов не приводит к изменению размера светособирающей антенны ФС2 и соотношения количества реакционных центров с разным размером антенны. Соотношение центров с активным и неактивным КВК также не изменилось после добавления 200 мкМ $K_2Cr_2O_7$. В то же время добавление 50 мкМ $CdSO_4$ привело к существенному снижению активности КВК.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №22-11-00009.

Литература.

1. Плюснина Т.Ю., Хрущев С.С., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б. Анализ кинетики индукции флуоресценции хлорофилла с помощью спектральной мультиэкспоненциальной аппроксимации // Биофизика, 2015, т. 60, № 3, с. 487-495.
2. Strasser B.J., Strasser R.J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP-test / In: Mathis P (ed), Photosynthesis: from light to biosphere. Springer, Dordrecht, 1995, pp 4869-4872. https://doi.org/10.1007/978-94-009-0173-5_1142.
3. Plyusnina T.Yu., Khrushev S.S., Degtereva N.S., Voronova E.N., Volgusheva A.A., Ryznichenko G.Yu., Rubina A.B. Three-state mathematical model for the assessment of DCMU-treated photosystem II heterogeneity // Photosynthesis Research, 2024, v. 159, p. 303-320. <https://doi.org/10.1007/s11120-024-01077-7>.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

А

Абашева К.Р.	9
Абдуллаев Ф.Ф.	11, 105, 107
Абдуллатыпов А.В.	13, 86
Абидуллина А.А.	117
Аветисян Е.А.	207
Агаев М.Н.	163
Агеева М.Н.	36, 236, 238, 250
Агранова Е.Д.	252
Азаренкова И.К.	142
Айбуш А.В.	26, 101
Альзеибак Р.	119
Андреев Г.В.	15
Андрюшаев Л.Е.	17
Анина А.А.	207
Антал Т.К.	165, 258
Антонян А.Э.	132
Артюхов В.Г.	140, 142, 163
Атамас А.	83
Ахмеджанова К.Г.	205
Ашихмин А.А.	21, 75, 148, 254
Ашихмина О.О.	254, 276

Б

Балалаева И.В.	119, 129, 136, 147, 150, 158, 159, 202, 217
Балашов Н.В.	19, 22
Баранова Е.Н.	166, 228
Бастрыкина Т.В.	252
Баташова С.С.	168
Баушева Д.К.	170, 202
Башарина О.В.	172
Белотелов А.Б.	121
Белотелов А.О.	170
Белых Д.В.	123
Белых Е.С.	123
Белых Н.Д.	123

Беляева А.С.	190
Бережнов А.В.	24, 194
Большаков В.А.	69
Большаков М.А.	21
Бондарев О.О.	34
Бондарь В.С.	248
Борисова-Мубаракшина М.М.	19, 22, 24, 28, 44, 64, 75, 145, 148
Бородкин А.В.	211
Боткина М.А.	256, 262
Бражникова А.В.	22
Брилкина А.А.	36, 119, 150, 236, 238, 250
Брилль Г.Е.	125
Бугрова Ю.С.	129
Булычев А.А.	48
Буравлева Е.В.	178
Буракова Л.П.	244
Буреев П.А.	132, 161
Бучарская А.Б.	174
Быкова Е.А.	252, 256, 262, 264

В

Вальков И.Н.	220
Васильева Л.	83
Васин А.А.	176
Ведунова М.В.	119
Велегжанинов И.О.	123
Ветошкина Д.В.	19, 24, 44, 62, 64, 81, 145, 148, 270
Ветрова Я.А.	105
Вечтомова Ю.Л.	26
Вильянен Д.В.	28, 44, 46, 75, 145, 148
Виноградова О.А.	30
Витухновская Л.А.	56
Вишневская А.И.	68

Воденеев В.А.	36, 50, 54, 107, 236, 238, 250
Воейков В.Л.	178
Войцеховская О.В.	15, 30, 32, 60, 66, 95
Волгушева А.А.	165, 258
Воронов Д.А.	252, 256, 262, 264, 266, 268, 272
Высоцкий Е.С.	244, 246
Вяткина М.О.	246

Г

Габдулхаков А.	83
Гамаюнов С.В.	156, 207
Гвоздев Д.А.	127
Геликонов Г.В.	207
Генин В.Д.	174
Генина Э.А.	174, 227
Гиппиус Н.А.	232
Гладкова Н.Д.	156, 207
Глявина А.М.	205
Горин Д.А.	232
Горохов В.В.	180
Горохова А.А.	119, 129, 150, 159
Горячев С.Н.	180
Гостев Ф.Е.	101, 176
Гребнева К.В.	34
Гречаник В.И.	260
Гречканев Г.О.	207
Грибова Г.П.	158
Грин М.А.	131
Гринберг М.А.	238, 250
Гришанова Н.П.	180
Гришина А.И.	36
Грязнова У.В.	38
Губарькова Е.В.	156
Гудков С.В.	182, 200
Гудкова В.Р.	127
Гулин А.А.	161
Гурылева А.В.	168
Гурьев Е.Л.	170, 202
Гуслякова О.И.	174

Д

Джатдоева С.А.	192
Джафарова В.И.	256, 262
Димитриева А.А.	250
Дмитрисва В.А.	30, 32
Добряков А.Л.	176
Донцов А.Е.	40
Дрозденко Т.В.	165
Дьяков С.А.	232

Е

Елагин В.В.	117, 132, 161
Елисеев С.Л.	230
Елохова Е.А.	198
Еремеева Е.В.	244
Еремин С.А.	188

Ж

Жаворонкова А.С.	36
Жарова П.М.	202
Жердев А.В.	188

З

Занегина Д.А.	250
Заспа А.А.	56
Захаров Д.А.	215
Звягин А.В.	170
Здобнова Т.А.	238, 250
Зеленская Н.Н.	220
Зеньков А.В.	242
Золин Ю.А.	42, 73, 90
Золотухина А.А.	168, 190
Зырянова С.С.	250

И

Иваницких А.С.	213
Иванов Б.Н.	19, 24, 28, 44, 46, 57, 62
Иванова Д.А.	272

Игнатова Л.К.	44, 62
Игнатова Н.И.	117, 132
Изосимова А.В.	234
Иудина В.Д.	202

К

Калашникова Т.И.	264
Калягина Н.А.	211
Каменский В.А.	132
Кириллова М.А.	240
Кичеева А.Г.	242
Клапшина Л.Г.	159, 217
Клочихина Д.А.	252
Козулева М.А.	24, 28, 44, 46, 57, 68
Колесник О.В.	242
Колтаков И.А.	163
Константинова С.В.	266
Конюхов И.В.	165, 258, 278
Коппель Л.А.	266
Корватовский Б.Н.	180
Корченова М.В.	134
Костров А.Н.	176
Котова А.О.	172
Кочубей А.В.	115
Кравченко Д.В.	192
Краснова Е.Д.	252, 256, 262, 264, 266, 268, 272
Красновский мл. А.А.	193
Кратасюк В.А.	240
Крицкая К.А.	194
Крицкий М.С.	26, 101
Крупенина Н.А.	48
Крылова Л.В.	136, 138, 147, 158, 202
Крысько Д.В.	119, 209
Крюкова Е.А.	69
Кудряшева Н.С.	242
Кузнецова Д.В.	50, 54
Кузьмина Н.С.	136, 138, 147, 158
Куимова М.К.	161
Кушков В.А.	52, 103
Курников А.А.	205

Л

Лабунская Е.А.	252, 256, 262, 264, 266, 268, 272
Ладан С.С.	190
Ладейнова М.М.	50, 54
Лазарева Е.Н.	227
Латушкин В.В.	166, 228
Лебедева Н.Ш.	144
Лермонтова С.А.	159, 217
Лещев В.К.	196
Лисина Т.Н.	198, 230
Лобышев В.И.	266, 268
Логинова М.М.	154, 207
Лукашев Е.П.	69
Лунева В.Е.	192
Лунина О.Н.	266
Лушева А.А.	172
Лыкова Т.Ю.	15
Лысенко Ю.А.	140, 142
Лысов А.К.	190
Любова Т.С.	159

М

Максимов Е.Г.	69
Маликова Н.П.	244
Мальцев Е.И.	115
Мальцева И.А.	115
Мамаева К.И.	144
Мамедов М.Д.	56, 85
Мамедова А.М.	56
Маркин Р.В.	19, 46, 57
Маркова С.В.	246
Мартынова А.А.	242
Масленникова А.В.	121, 205
Матвеева Т.А.	200
Маторин Д.Н.	272
Мачихин А.С.	168, 190
Мессингер И.	94
Милановский Г.Е.	59, 68, 85
Минцев Д.М.	202
Мищенко Т.А.	119
Могильная О.А.	248

Можеров А.М.	234
Моисеев А.А.	207
Москалев А.С.	211
Мотовилова Т.М.	154
Мудрилов М.А.	54
Муртузова А.В.	15, 60, 95

Н

Наволокин Н.А.	174
Надеева Е.М.	44, 62
Надточенко В.А.	176, 204
Найдов И.А.	22, 24, 28, 44, 46
Намсараев З.Б.	276
Наташин П.В.	244
Неверов К.В.	101
Немирова С.В.	205
Нестерова В.В.	127
Николаев А.А.	64
Новиков В.Б.	228
Новичкова Н.С.	64
Нокс П.П.	180
Нючев А.В.	136, 147, 158

О

Обухов Ю.Н.	101
Обыденнова С.А.	54
Орлова А.Г.	205
Осочук С.С.	145, 148
Островский М.А.	40
Отвагин В.Ф.	136, 138, 147, 158
Отставнова М.В.	256, 262

П

Павлов И.Б.	66, 95
Панченко Ю.Н.	152
Пашинцева А.В.	254, 276
Пашкевич Н.И.	145, 148
Пашенко В.З.	180
Пескова Н.Н.	119, 129, 150, 217
Петрова А.А.	59, 68
Петровская Л.Е.	69

Печёрина А.А.	238, 250
Пищальников Р.Ю.	52, 71, 103
Плеханов А.А.	207
Плюснина Т.Ю.	99, 165, 278
Подлесных П.Н.	252
Подобедова А.А.	252
Позднякова-Филатова И.Ю.	81
Попова А.Ю.	9, 73, 90
Посохина Е.Д.	248
Потапов А.Л.	154, 156
Потапова Е.В.	264
Прокопьев В.Е.	152
Проскуряков И.И.	24
Пукаева А.А.	163
Пучикин А.В.	152
Пушкарева Е.И.	123
Пылина Я.И.	123
Пыхова Е.С.	75, 145, 148

Р

Разживин А.П.	71
Ранджан Р.	240
Ратницына Д.А.	77
Редькин Т.С.	209, 217
Ризниченко Г.Ю.	99, 165, 278
Рогова А.В.	244
Ронжин Н.О.	248
Роцин И.А.	211
Рубин А.Б.	99, 165, 278
Руденко Н.Н.	44, 46, 62
Рыжих Ю.С.	81, 270
Рыхлов А.С.	184

С

Савченко Т.В.	38
Савюк М.О.	209, 217
Сажина М.М.	234
Салихов К.М.	85
Саримов Р.М.	200
Сачкова Д.А.	234
Седова Е.С.	156
Секретарева У.С.	172

Селифонова Е.И.	184
Селиханов Г.	83
Семенов А.Ю.	56, 59, 68, 85
Семенова Н.А.	213, 215
Сердюк О.П.	86
Сидоченко Н.Д.	256, 264, 272
Сиротина Л.З.	154
Сироткина М.А.	156, 207
Слепцова Е.Е.	209, 217
Смирнов А.А.	213
Смолова Т.Н.	94
Соколовская Ю.Г.	268
Соловченко А.Е.	274
Старыгина П.А.	254, 276
Степанова Е.В.	215
Стрельцова О.С.	132
Субочев П.В.	205
Судариков К.А.	166, 219
Суханов А.Н.	85
Сухов В.С.	9, 17, 34, 42, 73, 77, 88, 90, 113
Сухова Е.М.	9, 17, 34, 42, 73, 77, 88, 90, 113
Сушко Е.С.	242
Сырбу С.А.	144

Т

Телегина Т.А.	26
Терентьев В.В.	24, 92
Тимошина П.А.	225
Тирас Х.П.	220
Титов А.Ф.	109
Тихонов К.Г.	38, 94
Томилин Ф.Н.	244
Турубанова В.Д.	119, 209, 217
Турчин И.В.	205, 222
Тухбатуллин Д.Р.	252
Тучин В.В.	174, 184, 196, 225, 227
Тучина Д.К.	227
Тучина Е.С.	134
Тютерева Е.В.	15, 30, 32, 60, 66, 95

У

Уденеев А.М.	211
Уютова Н.И.	213

Ф

Фахруллин Р.Ф.	224
Федоров А.Ю.	136, 138, 147, 158
Федотова Е.А.	138, 147, 158
Федотова Е.И.	194
Фуфина Т.	83

Х

Харченко А.А.	225
Хлебцов Б.Н.	174
Хлебцов Н.Г.	174
Хлынова А.Э.	161
Хорошаева Т.П.	97
Хоченков Д.А.	205
Хоченкова Ю.А.	205
Хрущев С.С.	99, 165, 278
Хузина А.Р.	209, 217

Ц

Цветинович Ю.	232
Цораев Г.В.	127
Цыганков А.А.	254, 260, 276

Ч

Червицов Р.Н.	278
Черепанов Д.А.	59, 68, 101
Черкасова Е.И.	121
Чесалин Д.Д.	52, 103
Четверкина А.А.	92
Четина О.А.	198
Чурикова Д.М.	11, 105

Ш

Шансхул Алаа Сабих	227
Шарапов М.Г.	194
Шевела Д.Н.	94
Шелаев И.В.	101, 176
Шелепова О.В.	166, 228
Шепелева А.А.	207
Шерин П.С.	161
Шерстнева О.Н.	11, 105, 107
Шерудило Е.Г.	79
Шестакова Л.Н.	159
Шибасва Т.Г.	79, 109
Шигапова Л.А.	142
Шилягина Н.Ю.	150, 159, 202
Шимолина Л.Е.	161
Ширманова М.В.	161, 234
Шитов А.В.	38, 111
Шукшина А.К.	92
Шумская И.С.	234
Шушунова Н.А.	174

Щ

Щербёнок С.В.	198, 230
Щеславский В.И.	234

Ю

Юдина Л.М.	9, 17, 34, 73, 113
Юдинцев А.В.	236
Южакова Д.В.	234
Юрина Е.С.	144
Юсупов В.И.	121

Я

Яковийчук А.В.	115
Яковлева М.А.	40
Яныкин Д.В.	21
Яхимчук Д.	83

Аналитическое оборудование для изучения биологических объектов и сред

АЗИМУТ ФОТОНИКС является поставщиком систем мультиспектрального анализа для задач фенотипирования и оборудования от ведущих мировых производителей на территорию России и СНГ.



- **Неразрушающий контроль качества продуктов**
 - Портативные ИК анализаторы



- **Измерение концентрации газов**
 - Газоанализаторы атмосферы
 - Газоанализаторы почвы



- **Гиперспектральная визуализация**
 - Гиперспектральные камеры



- **Контроль среды**
 - Вегетационные камеры
 - Измерители освещения



- **Изучение фотосинтеза**
 - Системы визуализации
 - Флуориметры



- **Изучение водного стресса растений**
 - Камеры Шоландера



Москва
ул. Шаболовка, д. 10, корп. 1
(м. Шаболовская)
+7 (495) 792-39-88
info@azimp.ru
www.azimp.ru
www.azimp-micro.ru

КОМПЛЕКСНЫЕ РЕШЕНИЯ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ И АНАЛИЗА РАСТЕНИЙ

Услуги:
аренда оборудования
обучение и проведение мастер-классов
проектные работы

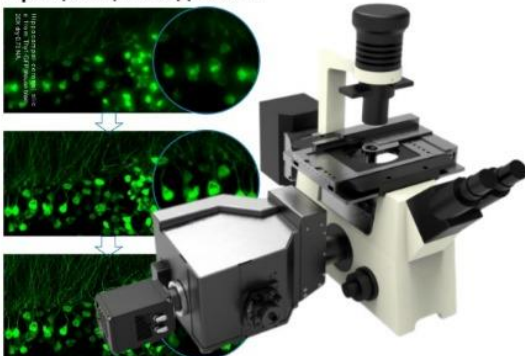


INFO@PHENOMICS.RU
www.phenomics.ru

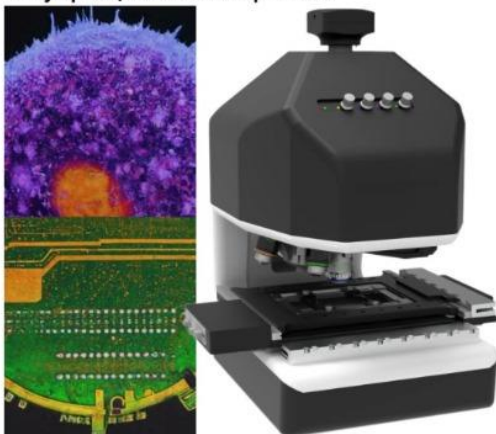
+7 926 386-18-06

- ✓ Цифровое фенотипирование:
мобильные системы
системы для теплиц и лабораторий
гравиметрический анализ
- ✓ Спектральная визуализация:
гиперспектральные камеры
мультиспектральные камеры
мобильные анализаторы
навесное оборудование
спектроскопия
- ✓ Камеры роста растений:
специализированные
с настраиваемыми параметрами
- ✓ Фитотроны и фитостеллажи для
выращивания растений
- ✓ Оборудование теплиц:
под ключ
индивидуальный подход

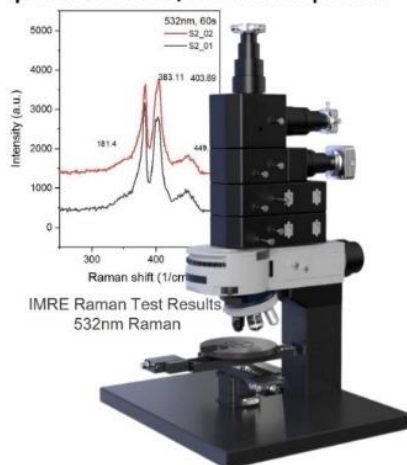
Конфокальный Микроскоп с вращающимся диском



Автоматизированный Флуоресцентный микроскоп



Комбинированный Раман и фотолюминесцентный микроскоп



Широкополосный портативный Раман анализатор кожи



CRYOTRADE

photonics

...WE MAKE IDEAS WORK

Компания **Cryotrade Engineering** — ВАШ надежный партнер в сфере комплексного оснащения лабораторий, включая разработку, поставку и пусконаладку систем и лабораторий разной направленности и комплектации.

Не упустите возможность улучшить свои исследования в биофотонике с помощью нашего оборудования!

Наши преимущества



Поставка в срок



Долгосрочная поддержка



Официальный дистрибьютор



Конкурентные цены



Адрес: 125 367, Москва,
Полесский проезд, 14а
Тел.: +7 495 374-69-52

E-mail: akm@cryotrade.ru



ЛАБ Инструменты

www.labinstruments.ru

sa@labinstruments.ru

+7(499)213-2652 (доб. 901)

+7(903)762-0296

Компания ЛАБИНСТРУМЕНТЫ работает с 2006-го года и прочно занимает лидирующие позиции на рынке лабораторного оборудования России и дружественных стран.

Компания ЛАБИНСТРУМЕНТЫ занимается поставками высококачественного лабораторного оборудования, аналитических приборов, расходных материалов и реагентов из США и Европы, а теперь также и из Китая.

Компания ЛАБИНСТРУМЕНТЫ специализируется на поставках в РФ и страны СНГ оборудования для изучения и выращивания растений, а также для изучения окружающей среды (почва, атмосфера, вода, освещенность).

Компания ЛАБИНСТРУМЕНТЫ предоставляет оборудование для ботаники и физиологии растений, для измерения газообмена растений и почв, для изучения фотосинтеза и измерения респирации, для измерения морфологических параметров растений, для оснащения карбоновых полигонов, для мониторинга параметров окружающей среды (атмосфера, почва, вода, освещенность) и многое другое!

Компания ЛАБИНСТРУМЕНТЫ эксклюзивно представляет в России большинство ведущих производителей оборудования из США и Европы и Китая.

Компания ЛАБИНСТРУМЕНТЫ имеет прямые связи с производителями, что даёт возможность обеспечить официальную техническую поддержку от производителей и самые лучшие цены.

Компания ЛАБИНСТРУМЕНТЫ обеспечивает высококвалифицированную поддержку благодаря наличию в нашем штате специалистов, обученных у производителей зарубежом.

Компания ЛАБИНСТРУМЕНТЫ гарантирует индивидуальный подход к каждому клиенту и полный комплекс услуг по поставкам и последующему сопровождению оборудования.





ЛАБ Инструменты

www.labinstruments.ru

sa@labinstruments.ru

+7(499)213-2652 (доб. 901)

+7(903)762-0296

Цель Компании ЛАБИНСТРУМЕНТЫ — предложить Вам максимально разнообразный ассортимент высококачественной продукции и профессиональный сервис. Накопленный нами опыт сделают Ваше сотрудничество с нами максимально продуктивным и комфортным для Вас!

В ассортименте компании ЛАБИНСТРУМЕНТЫ:

- ✓ Оборудование для оснащения карбоновых полигонов
- ✓ Станции анализа атмосферы методом eddy covariance
- ✓ Газоанализаторы парниковых газов
- ✓ Системы измерения газообмена растений
- ✓ Системы измерения газообмена почв
- ✓ Флуориметры для измерения флуоресценции хлорофилла
- ✓ Измерители респирации кислорода
- ✓ Анализаторы площади листьев
- ✓ Анализаторы листового индекса
- ✓ Анализаторы корней
- ✓ Анализаторы морфологических параметров растений
- ✓ Анализаторы устьичной проводимости (порометры)
- ✓ Анализаторы вегетационных индексов
- ✓ Анализаторы уровня содержания хлорофилла
- ✓ Анализаторы водного стресса растений
- ✓ Анализаторы качества плодов
- ✓ Дендрометры
- ✓ Оборудование для выращивания растений
- ✓ Станции фенотипирования и сканеры для них
- ✓ Датчики освещенности и регистраторы сигнала
- ✓ И многое другое!



Компания ЛАБИНСТРУМЕНТЫ сотрудничает со всеми ведущими мировыми производителями из США, Европы и Китая:

APOGEE, CAMPBELL, CID BIO-SCIENCE, DELTA-T, DYNAMAX, FELIX, FT GREEN LLC, HANSATECH, HEALTHY PHOTON, HUKSEFLUX, LICA, LI-COR, PHOTON SYSTEMS, PMS INSTRUMENT, PP SYSTEMS, PRI-ECO, QUBIT SYSTEMS, REGENT INSTRUMENTS, STEVENS WATER, WALZ и многими другими!

Российское фотобиологическое общество
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»
Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии
наук – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Московский государственный университет имени
М.В. Ломоносова»

Научное издание

I региональное собрание РФО и Всероссийская конференция
с международным участием
«Современные проблемы фотобиологии и биофотоники»
14 – 19 октября 2024 г.
Нижний Новгород

Сборник тезисов

Материалы изданы в авторской редакции

Подписано в печать 04.10.2024. Формат 60x84/16
Усл. печ. л. 16.91

ISBN 978-5-6050635-1-3



9 785605 063513 >

I региональное
собрание РФО
и Всероссийская
конференция
с международным
участием

СОВРЕМЕННЫЕ
ПРОБЛЕМЫ
ФОТОБИОЛОГИИ
И БИОФОТОНИКИ

14-19 ОКТЯБРЯ 2024
НИЖНИЙ НОВГОРОД

photobiology2024@mail.ru
photobiology.ru

