



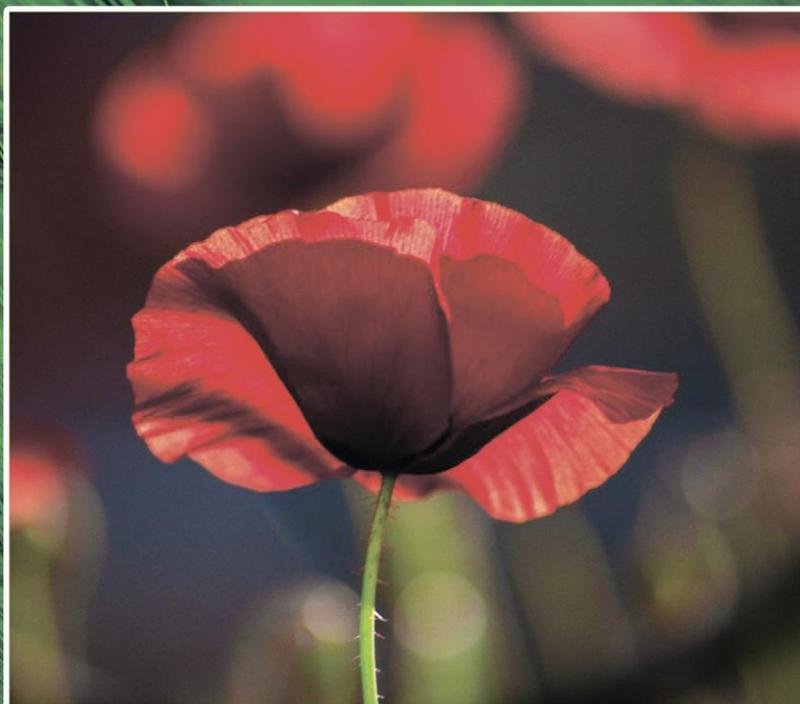
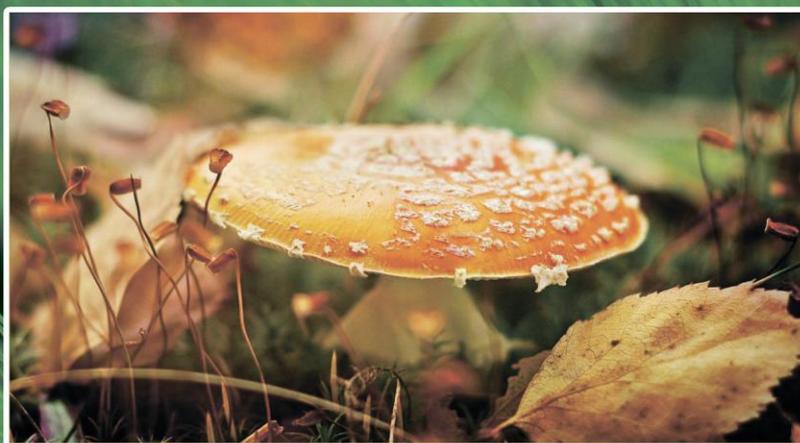
19-я Международная пуштинская школа-конференция молодых ученых



# Биология

*Наука XXI века*

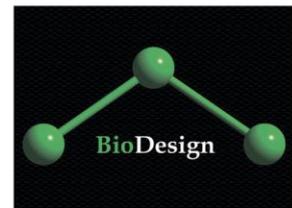
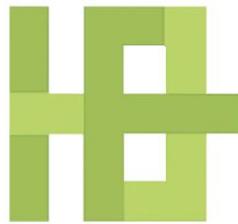
## Сборник тезисов



Пушино, 2015



Комплексное оснащение лаборатории





Федеральное государственное бюджетное учреждение  
Пушинский научный центр Российской академии наук

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



**19-я Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых  
«БИОЛОГИЯ - НАУКА XXI ВЕКА»**

The 19<sup>th</sup> INTERNATIONAL PUSHCHINO SCHOOL CONFERENCE OF YOUNG SCIENTISTS  
“BIOLOGY – THE SCIENCE OF THE XXI CENTURY”

Пушино, 2015



После ионообменной градиентной хроматографии (носитель - Toyopearl DEAE 650M), обработанных детергентом, тилакоидных мембран, было установлено, что при концентрациях NaCl 100-300 мМ и 550-850 мМ в геле, после проведения нативного электрофореза, выявляются полосы, свидетельствующие о присутствии КА. Элюаты, содержащие фрагменты мембран в установленных границах концентраций NaCl обозначили как «низкосолевая» и «высокосолевая» фракции, соответственно. При анализе в тех же условиях тилакоидных мембран, содержащих только ФС1 КА выявлялась только в «высокосолевой» фракции.

Подтверждение того, что КА активности «низкосолевой» и «высокосолевой» фракций принадлежат разным белкам, было получено после осаждения белков исследуемых фракций ацетоном с последующим проведением аффинной хроматографии (носитель - агароза с иммобилизованным мафенидом, ингибитором КА). Обнаруженные белковые полосы, обладающие КА активностью после нативного электрофореза имели разную электрофоретическую подвижность.

Кроме того, элюаты после аффинной хроматографии были исследованы с помощью липофильного специфического ингибитора КА этоксизоламида (EZ). КА активность белков «низкосолевой» фракции полностью подавлялась уже в концентрации  $10^{-9}$  М, что соответствовало обнаруженной ранее высокой чувствительности КА активности ФС2-мембран к EZ, тогда как снижение КА активности белков «высокосолевой» фракции было незначительным (примерно на 30%).

## ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА И ГЛУТАТИОНА У КОНТРАСТНЫХ ПО ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ

**Фенько А.А., Репкина Н.С., Таланова В.В.**

ФГБУН Институт биологии КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия

*angelina911@ya.ru*

Низкая температура является одним из основных неблагоприятных факторов окружающей среды, на который растения реагируют целым комплексом различных адаптивных реакций. В связи с этим, целью работы было изучение влияния низких температур на содержание низкомолекулярных защитных соединений (пролина и глутатиона) у отличающихся по своей холодоустойчивости растений – холодостойкого (пшеница) и теплолюбивого (огурец).

Недельные проростки пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с. Московская 39 подвергали действию закалывающей температуры (4°C) в течение 7 суток, а огурца (*Cucumis sativus* L.) с. Зозуля – закалывающей (12°C) и повреждающей (4°C) температур в течение 3 суток. О холодоустойчивости пшеницы судили по температуре, вызывающей гибель 50% палисадных клеток листа (ЛТ50) после тестирующего промораживания, а огурца – по выходу электролитов из клеток листьев. Содержание свободного пролина анализировали методом Бейтса, уровень глутатиона – методом ВЭЖК.

Установлено, что при действии температуры 4°C на проростки пшеницы наблюдается постепенное увеличение устойчивости клеток к промораживанию уже в начальный его период (5–24 ч) с выходом на плато на 6–7-е сутки. Повышение устойчивости коррелировало с аккумуляцией пролина, максимальное содержание которого наблюдалось на 6–7-е сут. Обнаружено также, что содержание глутатиона в листьях пшеницы повышается в начальный период действия температуры 4°C, а в дальнейшем постепенно снижается, тем не менее, даже на 6–7-е сутки его уровень остается довольно высоким.

При действии температуры 4°C на проростки огурца уже через сутки наблюдалось значительное увеличение выхода электролитов по сравнению с контролем, что указывает на их повреждение. Наряду с этим резко повышалось содержание свободного пролина. В отличие от этого, воздействие температуры 12°C на проростки огурца приводило к постепенному снижению выхода электролитов. Содержание пролина при закалывающей температуре повышалось, но его величина была ниже, чем при повреждающей температуре.

Полученные данные свидетельствуют о том, что повышение устойчивости как холодостойких, так и теплолюбивых растений при действии низких температур связано с



аккумуляцией пролина и глутатиона, которые играют важную роль в механизмах адаптации за счет антиоксидантных свойств и способности стабилизировать субклеточные структуры.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 14-04-31676–мол\_а).

## ИЗУЧЕНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПРИОБРЕТЕННЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЯМИ РОДА *NICOTIANA* ОТ АГРОБАКТЕРИЙ

**Хафизова Г.В., Матвеева Т.В.**

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет,  
Санкт-Петербург, Россия

*galina.khafizova@gmail.com*

*Agrobacterium tumefaciens* и *A. rhizogenes* вызывают развитие на растениях трансгенных опухолей и бородачатых корней в результате переноса фрагмента своей плазмиды (Т-ДНК). Ранее была обнаружена последовательность, гомологичная Т-ДНК агробактерий, в геноме растения *Nicotiana glauca*, не подвергавшегося инфекции. Позже подобные последовательности, названные клТ-ДНК (клеточная Т-ДНК), были найдены и у других представителей рода *Nicotiana*. У исследованных видов вставка различается по длине и по составу онкогенов. Часть генов экспрессируется, вызывая изменение соотношения фитогормонов в растении, что влияет на протекание процессов регенерации и опухолеобразования. На сегодняшний день известно, что вставки были приобретены от разных штаммов, но данные о количестве актов агробактериальной трансформации отсутствуют. В своей работе мы ставили задачу сравнить сайты интеграции Т-ДНК у *N. tabacum* и *N. glauca*, далеко отстоящих друг от друга в древе рода *Nicotiana*. В ходе работы были подобраны сочетания праймеров для анализа пограничной с Т-ДНК последовательности в геномах *Nicotiana*. На матрице *N. glauca* была поставлена ПЦР с праймерами к растительной части последовательности, и к Т-ДНК. Анализ ПЦР-продукта с помощью электрофореза показал, что в ходе реакции нарабатывается ампликон ожидаемого размера. Полученный с ПЦР-продукта сиквенс подтвердил, что нарабатывается клТ-ДНК *N. glauca*. Проведение подобной реакции на матрице *N. tabacum* схожих результатов не дало. Также были поставлены ПЦР на этих же растительных матрицах с другим сочетанием праймеров, подобранных к растительным участкам по краям сайта вставки. В ходе реакции на ДНК *N. glauca* фрагмент не нарабатывался, так как вставка имеет большую протяженность, а в ходе реакции на матрице *N. tabacum* нарабатывался короткий фрагмент, что подтверждает отсутствие вставки в этом месте в геноме *N. tabacum*. Таким образом, данная тест-система позволила определить, что места интеграции у двух изучаемых видов различны, что может служить ещё одним доводом в пользу предположения о нескольких актах агробактериальной трансформации в ходе эволюции рода *Nicotiana*.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ No14-04-01480 А, темпланов СПбГУ 1.39.315.2014, 0.37.526.2013. с использованием оборудования ресурсного центра СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

## ПОЛУЧЕНИЕ КДНК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ МИКРОРНК, ИНДУЦИРУЕМЫХ СОЛЕВЫМ СТРЕССОМ У ГАЛОФИТА

**Шувалова Е.Ю.<sup>1,2</sup>, Шувалов А.В.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО Волгоградский государственный университет, Волгоград;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН,

<sup>3</sup>ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

*Hritova\_Katia@mail.ru*

МикроРНК представляют собой разновидность регуляторных РНК длиной в 20-24 нт. Комплементарно связываясь с мРНК-мишенью, они регулируют экспрессию на пост-транскрипционном уровне. Их регуляторный потенциал может быть широко применим в биотехнологии растений. Анализ изменения набора микроРНК в галофитах при солевом