

## СЕКЦИЯ «ФИЗИКА»

## ПОДСЕКЦИЯ «БИОФИЗИКА»

## Фотолюминесценция структур нанотрубок, организованных биомолекулами

V. Frolov\*, T. Erb\*\*, O. Kysil\*\*\*

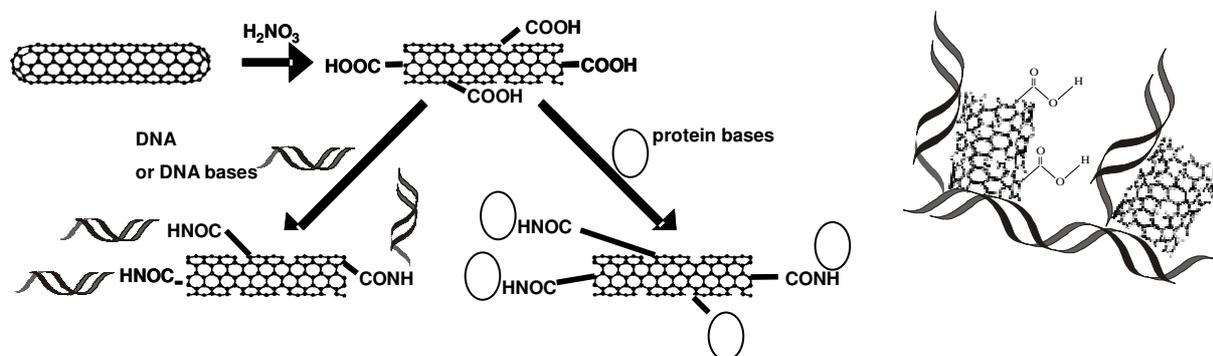
Student\*, PhD student\*\*, assistant\*\*\*, \*

\*. National Taras Shevchenko University of Kyiv 64, Vladimirskaya Str., 01033 Kyiv, Ukraine

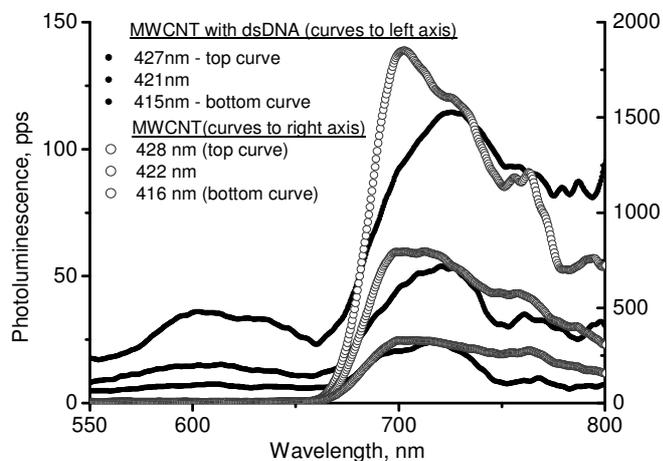
\*\*. TU Ilmenau, Institut für Physik; ZMN, Postfach 100565, 98684 Ilmenau, Germany

E-mail: [volodymyr.frolov@gmail.com](mailto:volodymyr.frolov@gmail.com); [lklk@ukr.net](mailto:lklk@ukr.net)

В этом докладе представлена возможность биофункционализации многостенных углеродных нанотрубок молекулами ДНК и базами протеинов, включая аденозин-монофосфат и фенилаланин, цистеин в водных растворах. Углеродные нанотрубки предварительно иммобилизируются на дефектах на их концах и стенках с помощью –COOH групп. Этап биофункционализации проводится с помощью лазерного или микроволнового излучения. Эти этапы представлены на рисунке слева (см. ниже). Также представлена схема комплекса связанных нитями ДНК нанотрубок (рисунке справа).



В результате комплексных оптических исследования (УФ-видимый-ИК, ИК и фотолюминесцентная спектроскопия (ФЛ)) и применения сканирующей электронной микроскопии (Сканирующая электронная и силовая микроскопия) для нанотрубок в водных растворах и наноструктур на поверхности кремния, приготовленных согласно разработанным методам, подтверждено, что углеродные нанотрубки со структурными дефектами и иммобилизирующими группами на их концах и стенках, распознают биомолекулы.



Например, интенсивность ФЛ адсорбированного слоя ДНК, связанных с нанотрубками на подложке из окисленного кремния (спектр фотолюминесценции ниже) резко падает в диапазоне 670-800нм и возникает новый участок повышения интенсивности спектра, сравнительно с спектром фотолюминесценции слоя нанотрубок; в спектре ФЛ биофункционализированных протеиновыми базами нанотрубок имеет специфичный максимум в водном растворе с ДНК. На основании

экспериментальных результатов, предложены модели фотоиндуцированных процессов взаимодействия между функционализирующими группами и опробованными биомолекулами протеиновыми базами.

Исследования поддержаны Акад.РАН Третьяковым Ю. Д, доц.Лукашиным А.А. Договор о сотрудничестве между МГУ им.М.В.Ломоносова и Киевским нац. унив.им.Т.Шевченко. Исследовательская работа В. Фролова также была поддержана стипендиантной программой DAAD Leonhard-Euler 2008/2009.

**Расчет параметров инаktivации фермента простагландин-Н-синтазы с учетом снижения скорости реакции за счет конверсии субстрата в ходе ферментативной реакции.**

**Бархатов В.И., Филимонов И.С.**

*Студент, сотрудник.*

*Московский государственный университет имени М.И.Ломоносова  
факультет биоинженерии и биоинформатики*

*E-mail: [fis82@yandex.ru](mailto:fis82@yandex.ru)*

Фермент простагландин-Н-синтаза (PGHS, К.Ф.1.14.99.1) осуществляет первый этап в биосинтезе всех простагландинов, а также тромбксана и простациклина. Простагландины – модуляторы сердечнососудистой, желудочно-кишечной, почечной и репродуктивной систем, они являются медиаторами боли, воспаления, аллергии, и поэтому фермент, катализирующий их биосинтез, представляет собой исключительно важную фармакологическую мишень. Терапевтический эффект всех нестероидных противовоспалительных средств обусловлен ингибированием PGHS.

PGHS – бифункциональный фермент, он катализирует: циклооксигеназное окисление арахидоновой кислоты двумя молекулами кислорода с образованием простагландина G<sub>2</sub> и пероксидазное восстановление перекисной группы простагландина G<sub>2</sub> в присутствии донора электронов с образованием простагландина H<sub>2</sub>.

Фермент подвергается быстрой необратимой инаktivации как в ходе пероксидазной, так и циклооксигеназной реакции. Инаktivация носит необратимый характер и имеет первый порядок по концентрации фермента. При протекании реакций концентрация активного фермента в растворе снижается по экспоненциальному закону  $E_{\text{акт}}(t) = E_0 \cdot e^{-\Lambda t}$ , где E<sub>0</sub> – начальная концентрация фермента, Λ – наблюдаемая константа инаktivации. Молекулярный механизм инаktivации PGHS до сих пор не известен.

Для выяснения механизма инаktivации необходимо определять зависимость параметров инаktivации от концентрации субстратов реакции. В области низких значений концентраций субстрата это трудновыполнимая задача, т.к. в этом случае снижение скорости ферментативной реакции обусловлено как инаktivацией фермента, так и уменьшением концентрации субстрата.

Нами разработан метод для расчета константы инаktivации по интегральной кривой образования продукта, путем специальной обработки двух массивов данных, для случая, когда снижение текущей скорости ферментативной реакции определяется не только инаktivацией фермента, но и снижением концентрации субстрата в результате его конверсии.

Мы применили этот метод для расчета константы инаktivации фермента в ходе пероксидазной реакции. При проведении пероксидажной реакции в качестве донора использовали N,N,N',N'-тетраметил-п-фенилендиамин (TMPD), в качестве перекиси – перекись водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). За протеканием реакции следили спектрофотометрически, по накоплению окисленной формы TMPD.

Для проверки точности метода (необходимости его применения) провели эксперименты по варьированию концентрации TMPD для двух различных концентраций фермента в реакционной среде (~4 нМ и ~20 нМ). В первом случае начальная концентрация субстрата в результате протекания реакции снижалась на ~10%, во втором на ~50%. Значения констант инаktivации, рассчитанные разработанным нами методом,

совпали для этих экспериментов, тогда как применение более грубого метода, заключающегося в описании экспоненциальной функцией интегральной кривой образования продукта, приводило к существенным различиям в значениях констант инактивации.

Более того, предлагаемый нами подход позволяет определить из одной интегральной кривой не только значение  $\Lambda$  соответствующее начальной концентрации субстрата, но и зависимость  $\Lambda$  от текущей концентрации субстрата.

### **Имитационная модель поведенческих реакций *Hirudo Medicinalis***

**Борунов А.В.<sup>1</sup>**

*Аспирант физического факультета*

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

*E-mail: [eredory@gmail.com](mailto:eredory@gmail.com)*

В данной работе поставлена задача исследования посредством имитационного моделирования участка нервной системы медицинской пиявки (*Hirudo Medicinalis*), ответственного, как считается, за генерацию плавательных осцилляционных движений этого животного. По своей сути это система взаимодействующих осцилляторов, протянувшаяся вдоль всего тела пиявки. Осцилляторы генерируют электрические импульсы определенной периодичности, которые далее поступают к мышцам тела пиявки. Сокращения мышц под действием этих импульсов приводят к характерным волнообразным движениям, посредством которых пиявка перемещается в водной среде.

До сих пор предметом исследований ученых была структура взаимодействия локальных осцилляторов (см [1]). Сами по себе они моделировались достаточно условно. В частности, в качестве структурных элементов осцилляторов использовалась математическая модель, инкорпорирующая в себе свойства синапсов и нейронов. В данной работе делается попытка построить более реалистичную модель локального осциллятора, учитывающую реальную топологию соответствующего участка НС пиявки.

Для решения поставленной задачи на языке программирования Java написана компьютерная система имитационного моделирования: программа-редактор, позволяющая строить сети взаимосвязанных элементов (представленных своими математическими моделями) и исследовать их работу. Проанализированы различные математические модели для основных элементов, составляющих нервную систему: нейронов и межнейронных соединений – синапсов. Они рассматриваются как структуры с нелинейными электропроводящими свойствами, зависящими от их текущего состояния. Соответствующие модели составлены на основе биофизических данных об этих элементах.

В программе построена модель локального сегментарного осциллятора и осуществлен численный эксперимент. Существенной частью работы была оценка параметров модели (в основном, сил синаптических, межнейронных связей), анализ их влияния на период и амплитуду генерируемых осцилляций. Экспериментальные сведения об этих величинах практически отсутствуют ввиду крайней сложности постановки соответствующих экспериментов.

В работе изложен метод оценки величин синаптических связей на основе представления о сегментарном осцилляторе как о совокупности осцилляторных ингибирующих контуров. Построенная таким образом модель в ходе численного эксперимента дала хорошее согласование с известной экспериментальной информацией.

### **Литература**

---

<sup>1</sup> Автор выражает признательность доценту, к.т.н. Грачеву Е.А., а также сотрудникам биологического факультета Надежде и Алексею Браже за помощь в подготовке тезисов.

1. Zheng M., Friesen W. O., Iwasaki T. Systems-level modeling of neuronal circuits for leech swimming // J Comput Neurosci – 2007. - №22 – P. 21–38.
2. Friesen W. O., William B. K. Leech locomotion: swimming, crawling, and decisions. //Current Opinion in Neurobiology – 2007. - №17. – P.704–711.
3. Keener J., Sneyd J. Mathematical Physiology - N.-Y.: Springer, 1998. – 766 p.
4. Николс Дж. Г., Мартин А. Р., Валлас Б. Дж., Фукс П. А. От нейрона к мозгу. – М.: УРСС, 2003. – 671 с.
5. Brodfuehrer P. D., Thorogood M. S. E. Identified neurons and leech swimming behavior. //Progress in Neurobiology – 2001. - №63. – P. 371–381.

**Изучение эффекта тяжелого атома в ферментативных реакциях  
Брюховских Татьяна Викторовна\*, Кириллова Тамара Николаевна\*\***

\* студент, \*\* аспирант

Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия

E-mail: [brushkot@mail.ru](mailto:brushkot@mail.ru)

Все живые организмы содержат небольшое количество тяжелых атомов, которые играют важную роль в ряде метаболических процессов. Среди них выделяются бром- и йодсодержащие соединения, которые могут оказывать как стимулирующее, так и подавляющее действие на биохимические процессы. БиOLUMИнесцентные реакции являются удобными маркерами для изучения влияния тяжелых галоидов на биохимические процессы.

Эффект тяжелого атома интенсивно изучался физиками-спектроскопистами в предыдущем столетии в растворах флуоресцентных красителей. Логично предположить, что этот эффект будет наблюдаться и в системах с химическим возбуждением в присутствии белка, т.е. в биOLUMИнесцентных реакциях.

Ранее [1] было исследовано воздействие ряда галогенидов калия на интенсивность биOLUMИнесценции светляков, морских бактерий и кишечнорастворимых. Сделан вывод, что основной вклад в тушение биOLUMИнесценции вносит не физический механизм, связанный с изменением скорости переносов энергии, а биохимический механизм, определяющийся взаимодействием галоидсодержащих соединений с ферментами. Необходимым продолжением в данных исследованиях является доказательство зависимости эффективности связывания соединений с ферментами от массы галоидного атома в составе соединения.

Целью работы являлось сравнение эффективности связывания гомологичных галоидсодержащих ксантеновых красителей, включающих атомы галоидов разной массы, с ферментами различной структуры. В работе использованы ферменты биOLUMИнесцентных реакций, выделенных из морского люминесцентного кишечнорастворимого *Obelia longissima*, морских люминесцентных бактерий *Ph.Phosphoreum* и светляков *Luciola mingrelica*.

В ходе эксперимента регистрировали спектры поглощения и флуоресценции ряда гомологичных ксантеновых красителей (флуоресцеин эозин, эритрозин), анизотропию их флуоресценции в присутствии разных концентраций белка. Строили зависимости анизотропии флуоресценции красителей от концентрации белков. Спектры и анизотропию флуоресценции регистрировали на люминесцентном спектрометре Aminco-Bawman, Series 2 (США).

Зарегистрирован рост анизотропии флуоресценции красителей с увеличением концентрации ферментов. Показано, что изменение анизотропии растет с увеличением массы галоидного заместителя в ряду красителей: флуоресцеин, эозин, эритрозин. Приводятся параметры, количественно характеризующие различия в связывании в ряду красителей для трех ферментов. Делается вывод, что с ростом массы галоидного заместителя в молекулах ксантеновых красителей наблюдается увеличение их

связывания с ферментами. Различия в связывании галоидсодержащих красителей с ферментами интерпретированы с точки зрения структуры ферментов различных люминесцентных организмов.

#### Литература:

1. Kirillova, T.N. *Effekt of heavy atom in bioluminescent reactions* / T.N. Kirillova, N.S.Kudryasheva // *Anal Bioanal Chem.* – 2007. – Vol. 10. – P. 387-392.

### Ошибки структурного выравнивания, связанные с энергетическими характеристиками белковых структур

Годзи М.Г.<sup>2</sup>

Студент физического факультета

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

E-mail: [mzx@mail.ru](mailto:mzx@mail.ru)

В настоящее время для определения эволюционной близости белковых структур широко используются методы структурного выравнивания, основанные на анализе аминокислотных последовательностей и пространственных структур. При этом в роли критериев близости выступает минимальное геометрическое расстояние между структурами, достижимое в ходе изменения расположения белковых структур без их деформации.

Актуальность данной работы связана с проблемой корректности выводов об эволюционной близости белков, которые делаются на основе анализа их статических структур без учета функциональных свойств. Поскольку основная функция белковых комплексов в живых системах не структурная, а ферментативная, состоящая, в частности, в уменьшении энергии активации биохимических реакций, то при функциональном исследовании и сравнении структур белковых комплексов необходимо учитывать энергетическое состояние, в котором находился белок, когда были зафиксированы координаты его атомов. Методы структурного выравнивания сравнивают структуры белков, восстановленные по данным рентгеноструктурного анализа, в ходе которого с каждым белком происходят индивидуальные, уникальные конформационные и энергетические изменения, соответствующие изменению pH, температуры, буферного окружения и сопровождающие процесс его кристаллизации. В результате даже одинаковые белковые комплексы при кристаллизации могут оказаться в разных энергетических состояниях и вследствие этого обладать разной геометрией.

В работе предложен принципиально новый способ преодоления некоторых ошибок структурного выравнивания, связанных с существенным различием энергетических состояний сравниваемых белков, а именно их предварительное «энергетическое выравнивание». Данный способ предполагает предварительный поиск для сравниваемых белков конформаций, отвечающих локальным минимумам энергии. Для экспериментальной проверки влияния предварительного энергетического выравнивания на величину RMSD (среднеквадратичное расстояние между атомами структурно выравниваемых белков), были использованы цепь А гемоглобина и цепь D нейтроглобина человека, взятые из Брукхэвского банка данных. Их структурное выравнивание первоначально выполняли в программе TopMatch [1]. Затем для обеих цепей методами силового поля MMFF94 рассчитывали полную энергию и методом сопряженных градиентов находили её локальный минимум как функции торсионных углов и длин связей. Соответствующие энергетическому минимуму конформации исходных цепей вновь использовали для структурного выравнивания в программе TopMatch. Разница в значениях RMSD для исходных и энергетически выровненных цепей составила 30%.

---

<sup>2</sup> Автор выражает глубокую признательность своему научному руководителю, с.н.с кафедры биофизики Иванову П.С.

Выявленные заметные различия в значениях RMSD указывают на необходимость дополнения существующих алгоритмов структурного выравнивания методами, учитывающими энергетические характеристики различных конформаций сравниваемых белков.

#### Литература

1. Manfred J. Sippl, Markus Wiederstein (2008) A note on difficult structure alignment problems // *Bioinformatics* 24(3): 426-427.

#### **Спектрально-люминесцентные свойства компонентов биолуминесцентной реакции бактерий в вязких средах**

**Гульнов Д.В.**<sup>3</sup>

*студент*

*Сибирский федеральный университет, институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Красноярск, Россия*

*E-mail: d\_d\_dima@mail.ru*

Большинство внутриклеточных ферментов обычно находится в сложной неоднородной среде, а не в разбавленном растворе, и никогда не функционирует в условиях, отвечающих уравнению Михаэлиса-Ментен. Для понимания механизмов сопряжения и функционирования ферментативных метаболических цепей в клетке используются разные подходы, одним из которых является исследование работы ферментов в условиях различного микроокружения.

В работе исследовано влияние четырех вязких буферных сред на основные компоненты биолуминесцентной реакции бактерий – флавинонуклеотид (ФМН), бактериальную люциферазу и НАДН:ФМН-оксидоредуктазу. Для оценки воздействия среды на конформацию ферментов и спектрально-люминесцентные свойства ФМН были использованы методы флуоресцентной спектроскопии. Были исследованы спектры флуоресценции и анизотропия флуоресценции ФМН, бактериальной люциферазы и НАДН:ФМН-оксидоредуктазы в присутствии различных концентраций глицерина, сахарозы, желатина и картофельного крахмала. Установлено, что компоненты сред оказывают влияние, главным образом, на интенсивность флуоресценции ферментов и ФМН. Зарегистрирован гипсохромный сдвиг приблизительно на 5 нм спектров флуоресценции люциферазы в растворе глицерина и НАДН:ФМН-оксидоредуктазы в растворе сахарозы, что может быть вызвано конформационными изменениями данных белков и/или тушением флуоресценции части триптофановых остатков в их составе. Низкая величина анизотропии флуоресценции белков, полученная в данной работе, с одной стороны, говорит о малом вкладе в деполяризацию вращения белковой глобулы как целого. С другой стороны, полученное возрастание анизотропии флуоресценции ферментов с увеличением вязкости среды свидетельствует о том, что часть триптофановых остатков в их составе находится на поверхности и подвержена влиянию растворителя.

На основании полученных результатов сделаны выводы о том, что наименьшее влияние при исследованных концентрациях на компоненты биолуминесцентной реакции оказывает крахмал, что согласуется с закономерностями тушения биолуминесценции в разных средах, обнаруженными ранее.

---

<sup>3</sup> Автор выражает признательность доценту, к.ф.-м.н. Немцовой Е.В. за помощь в подготовке тезисов.

## Измерение проводимости раствора водных вытяжек для определения посевных качеств семян

Дульский А.В.<sup>1</sup>

Аспирант электротехнологического факультета

Ставропольский государственный аграрный университет, Ставрополь, Россия

E-mail: dulskii\_alex@mail.ru

Для оценки биологических и посевных качеств семян сельскохозяйственных культур используется электрофизиологическая характеристика – электропроводность раствора, т.е. учёт количества выхода электролитов из семян, находящихся в водной среде. Нами использовался генератор импульсного электрического поля (ИЭП) для предпосевной обработки семян с целью повышения их посевных качеств, стимуляции развития растений из обработанных семян. При изучении результатов воздействия импульсного электрического поля на семена овощных культур наряду с традиционными методиками - определение энергии прорастания и всхожести семян, мы использовали электрофизический метод – кондуктометрический анализ. Чем выше всхожесть семян, тем меньше электропроводность водной вытяжки. Это объясняется целостностью клеточных мембран, которые у семян с низкими посевными качествами утрачивают способность удерживать электролиты внутри клетки и они легко вымываются при замачивании семян в дистиллированной воде. Семена с высокой жизнеспособностью хорошо удерживают электролиты, поэтому электропроводность их водных вытяжек минимальна.

В лаборатории УНИЛ СтГАУ, нами получены экспериментальные данные электропроводности водных вытяжек и всхожести семян моркови сорта «Витаминная б», прошедших предпосевную обработку импульсным электрическим полем частотой 51 Гц., при времени обработки от 10 до 120 мин. Полученные данные представлены в таблице.

Таблица –электропроводность водных вытяжек из семян моркови сорта «Витаминная б» и их всхожесть в зависимости от времени обработки семян ИЭП

Время обработки семян, мин	10	30	60	90	120
Всхожесть, %	91	92,8	96,7	98,5	95
Электропроводность, мСим/см	81,0	74,8	72,1	71,0	73,8

Из приведенных данных видно, что при максимальной всхожести семян 98,5 %, минимальная электропроводность водных вытяжек составляет 71 %.

При использовании кондуктометрического анализа можно достаточно точно характеризовать посевные качества семян, внося коррективы в режимы предпосевого стимулирования роста семян. Метод определения электропроводности водных вытяжек из семян отличается высокой чувствительностью, надежностью, быстродействием и большой производительностью – все это позволяет изучать малейшие отклонения в физиологическом состоянии семян и растений.

### Литература

1. Любая С. И. (2002) Оценка посевных качеств семян и повышение адаптивных свойств озимой пшеницы с использованием электрофизических методов // Дисс.к.с.х.н. Любая С. И.; Ставрополь, 2002.
2. Стародубцева, Г.П. (1996) Использование электрофизиологических методов для определения посевных качеств семян и зерна /Г.П. Стародубцева, В.Ф. Попов, С.И. Шимченко //Современные достижения биотехнологии: Материалы Всерос. конф. (Ставрополь, июль, 1996 г.). – Ставрополь, 1996.

<sup>1</sup>Автор выражает признательность профессору, д.с.х.н. Стародубцевой Г. П. за помощь в подготовке тезисов.

**Компьютерная разработка синтетических вакцин: докинг с ограничениями.****Каткова Е.В.<sup>1</sup>, Жабин С.Н.<sup>2</sup>***Студентка, научный сотрудник*<sup>1</sup>*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*<sup>2</sup>*НИИЦ МГУ**E-mail: [katkova\\_aya@bk.ru](mailto:katkova_aya@bk.ru)*

Вакцинация – способ предупреждения и лечения целого ряда инфекционных заболеваний, таких как грипп, туберкулез, гепатит Б. В настоящее время наиболее безопасными и простыми в производстве являются синтетические вакцины – небольшие пептиды, содержащие только небольшой фрагмент возбудителя, изготовленные с помощью генной инженерии и органического синтеза. Они связываются в клетках с белками главного комплекса гистосовместимости и вызывают иммунный ответ организма[1]. Процессы взаимодействия синтетической вакцины с организмом вполне предсказуемы и могут служить предметом рационального компьютерного дизайна. Для того чтобы оценить, какой иммуногенностью обладает пептид нужно правильно позиционировать его в активном центре белка и найти глобальный минимум функции свободной энергии связывания пептида с белком.

В случае небольших молекул (до 15 степеней свободы) задача позиционирования лиганда в активном центре (докинга) и нахождения минимума функции в 21-мерном пространстве решается на современных компьютерных мощностях за приемлимое количество времени при использовании, например, генетического алгоритма. Общее количество степеней свободы пептида больше 20 – максимальной размерности задачи, с которой еще справляется стандартный генетический алгоритм докинга. Поэтому, для эффективного поиска необходимо наложить некие дополнительные условия, которые позволяют сократить размерность пространства поиска. Процедура, реализованная в программе «Astra» использует тот факт, что при связывании эпитопа в белках ГКГ концевые аминокислоты всегда принимают сходные геометрические положения. В полной мере это относится к 2 первым и 2 последним аминокислотам эпитопа, положения которых можно считать практически фиксированными из-за сильных стерических ограничений при взаимодействии с активным центром белков ГКГ класса 1.

В настоящей работе был реализован в программе «Astra» генетический алгоритм докинга с закрепленными концами. Программа была валидирована на структурах «белок главного комплекса гистосовместимости – нативный пептид», взятых из базы данных PDB. Были найдены оптимальные значения параметров генетического алгоритма. Было показано, что при выбранных значениях параметров программа успешно находит правильное положение нативного пептида в активном центре белка. Время, требуемое для оценки положения и энергии одного пептида – 2-4 часа. Для сравнения, было проведено позиционирование ненативных пептидов в структуры ГКГ, взятые из базы данных PDB. Было показано, что энергии связывания ненативных пептидов существенно отличаются от энергий связывания нативных пептидов для данного типа ГКГ.

Этот алгоритм был применен для поиска потенциального противоракового препарата. В качестве иммуногенного белка, на основе которого может быть получена вакцина, был взят белок BORIS, экспрессирующийся при различных видах рака грудных желез[2]. Построив по известной аминокислотной структуре белка ряд всевозможных олигопептидов (лигандов для позиционирования), получили набор потенциальных противораковых вакцин. Расположение в щели ГКГ и энергия связывания каждого пептида были рассчитаны с помощью программы «Astra».

**Литература**

1. Stanley A. Plotkin “Vaccines: past, present and future”/ Nature medicine, 11: p.S5-S11, 2005
2. Loukinov D., Ghochikyan A., Mkrtychyan M., T.E. Ichim, Lobanenkov V., D.H. Cribbs, M.G. Agadjanyan “Antitumor Efficacy of DNA Vaccination to the Epigenetically Acting Tumor Promoting

Transcription Factor BORIS and CD80 Molecular Adjuvant” / Journal of Cellular Biochemistry 98: p.1037–1043, 2006

## Влияние гистона H1 на формирование надмолекулярных комплексов ДНК с белком HMGB1

Кипенко И.Б.<sup>1</sup>

Студент

Санкт-Петербургский государственный университет физический факультет кафедра молекулярной биофизики, Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: kipenkoi@gmail.com

Работа посвящена изучению взаимодействий между негистоновым белком хроматина HMGB1, гистоном H1 в присутствии молекулы ДНК и в свободном состоянии. Белки HMGB1 и H1 играют важную роль в организации структуры хроматина на надмолекулярном уровне. Известно, что при связывании с линкерной ДНК эти белки способны образовывать надмолекулярные комплексы. [1]. Однако до сих пор, остаются до конца неизученными взаимодействия между данными белками и ДНК в межнуклеосомных участках хроматина.

Взаимодействуя по разным бороздкам двойной спирали, белки изменяют структуру молекулы ДНК, возможно, тем самым облегчая связывание с двойной спиралью [2]. Несколько авторов показали [3], что HMGB1 может конкурировать с гистоном H1 за связывание с линкерными участком молекулы ДНК.

При изучении тройного комплекса ДНК-HMGB1-H1 важен вопрос о возможности и характере взаимодействия между белками HMGB1 и H1 в отсутствие молекулы ДНК. Некоторые авторы полагают, что гистон H1 способен взаимодействовать не только с молекулой ДНК, но и с другими белками хроматина. Наиболее вероятным кандидатом на эту роль выступает негистоновый белок HMGB1 [4]. Поэтому особое внимание в работе уделяется исследованию взаимодействия между белками HMGB1 и H1, а также влияние этого взаимодействия на вторичную структуру белков в растворе. Исследование изменений структуры двойной спирали ДНК при одновременном взаимодействии с белками HMGB1 и H1 показало, что характер взаимодействия ДНК с двумя белками отличается от ее взаимодействия с каждым белком по отдельности [5, 6, 7].

В ходе работы при помощи метода кругового дихроизма (КД), нами было показано, что существует взаимодействие между белками HMGB1 и H1 в растворе 15мМ NaCl. Проведено исследование взаимодействия между белками HMGB1 и H1 в зависимости от различных весовых соотношений HMGB1/H1 ( $R$ ) и показано, что взаимодействие существует при  $R < 1$ . Так же было показано, что взаимодействие между белками приводит к 20%-ному увеличению количества  $\alpha$ -спиральных участков в комплексе. Таким образом показана возможность применения метода КД для обнаружения межмолекулярных взаимодействий между негистоновым белком HMGB1 и гистоном H1.

Кроме этого для понимания устройства комплекса ДНК-HMGB1-H1 проводилось исследование бинарных систем ДНК-HMGB1 и ДНК-H1 в зависимости от различных весовых соотношений ( $r$ ) белок/ДНК в комплексе. Для системы ДНК-HMGB1 было показано, что в комплексе происходит увеличение доля  $\alpha$ -спиральных участков белка HMGB1, по сравнению с его свободным состоянием. Так же проведен первичный анализ трехкомпонентного комплекса ДНК-HMGB1-H1, свидетельствующий о том, что в нем могут формироваться крупные светорассеивающие частицы. Условия образования рассеивающих частиц в трехкомпонентном комплексе будет зависеть, как от соотношения белок/ДНК ( $r$ ), так и от соотношения HMGB1/H1 – ( $R$ ). Существует пороговое значение  $r_{\text{пор}}$  после преодоления которого, достоверный анализ спектров КД становится не достоверным, потому что растворы комплексов обладают сильным

светорассеянием. Таким образом, была очерчена естественная граница применимости метода КД к исследованию надмолекулярного комплекса ДНК-НМГВ1-Н1.

### Литература

1. Travers A., Thomas J.O. (2004) In: Chromatin structure and dynamics: State-of-the-Art. Eds.: J. Zlatanova, S. H. Leuba. Amsterdam, Elsevier, p. 103.
2. Lori A. Kohlstaedt and R. David Cole. (1994) Biochemistry v. 33, № 42, p. 12702.
3. J. Zlatanova, K. van Holde. (1998) BioEssays, v. 20, № 7, p. 584.
4. E.A. Kohlstaedt, E.C. Sung, A. Fujishige, R.D. Cole. (1987) J. Biol. Chem., v. 262, № 2, p. 524.
5. A.M. Polyanichko, E.V. Chikhirzhina, A.N. Skvortsov, E.I. Kostyleva, P. Colson, C. Houssier, V.I. Vorob'ev. (2002) J. Biomol. Struct. Dyn., v. 19, № 6, p. 1053.
6. E.B. Чихиржина, А.М. Поляничко, А.Н. Скворцов, Е.И. Костылева, К. Усье, В.И. Воробьев. (2002) Мол. Биол., т. 36, № 3, с. 525.
7. A. Polyanichko, E. Chikhirzhina, V. Andruschchenko, V. Vorob'ev, H. Wieser. (2006) Biopolymers, v. 83, p. 182.

### Колебания сигнала ЭПР в модели первичных процессов фотосинтеза

Киржанов Д.В.<sup>1</sup>, Алексеев А.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>м.н.с., <sup>2</sup>студент

<sup>1</sup>Институт машиноведения РАН, <sup>2</sup>физический факультет МГУ, Москва, Россия

<sup>1</sup>kirzhanov@gmail.com, <sup>2</sup>alex\_msu\_24@mail.ru

Немонотонные индукционные процессы при фотосинтезе проявляются вследствие регуляции [2]. В экспериментах были обнаружены затухающие колебания скорости поглощения  $\text{CO}_2$  и интенсивности флуоресценции фотосистемы II (ФС2). В эксперименте эти колебания наблюдаются в ответ на резкое изменение условий внешней среды. Их период может составлять несколько десятков секунд.

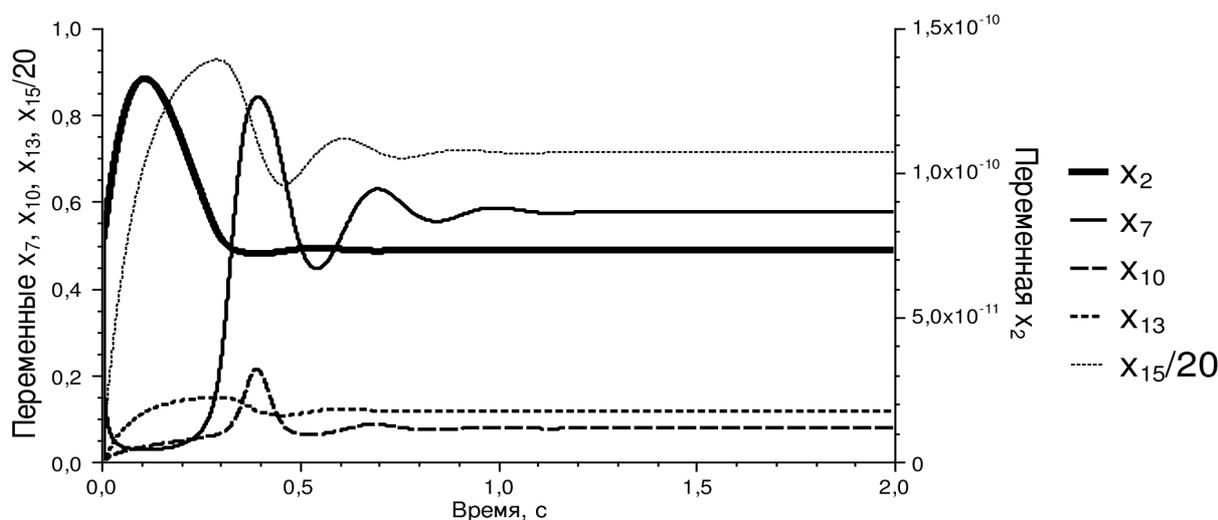


Рисунок 1. Зависимости переменных модели от времени.

Однако, в литературе отсутствуют сведения о колебаниях сигнала ЭПР фотосистемы I (ФС1). В случае обнаружения, такие колебания могли бы стать дополнительным обоснованием существования некоторых механизмов регуляции фотосинтеза. Теоретическое объяснение этих колебаний подтвердило бы полноту существующих теорий регуляции. Для получения колебательного режима используется

разработанная ранее математическая модель [1], модифицированная для проведения исследований в широком диапазоне времён ([3], система уравнений 1). Световые стадии в модели учитывают поглощение энергии света, миграцию возбуждений и разделение зарядов в двух фотосистемах и флуоресценцию пигментов антенны ФС2. Цепь электронного транспорта между двумя фотосистемами состоит из 3 переносчиков. В модели учтены 5 наиболее важных стадий с участием интермедиатов цикла Кальвина.

На рис. 1 приведены зависимости переменных  $x_2$  (соответствует флуоресценции ФС2),  $x_7$  (число реакционных центров  $P700^+$ , переменная пропорциональна сигналу ЭПР ФС1),  $x_{10}$  (ДФГК),  $x_{13}$  (РБФ) и  $x_{15}$  (АТФ) от времени. Зависимости получены при моделировании фотосинтеза под действием постоянного освещения. Видны колебания сигнала ЭПР ФС1, связанные с колебаниями концентраций интермедиатов цикла Кальвина. Колебания флуоресценции ФС2 при тех же условиях не наблюдается. Колебания возникают вследствие взаимодействия цикла Кальвина со световыми процессами посредством АТФ и НАДФ.

#### Литература:

1. Караваев В.А., Кукушкин А.К.: Теоретическая модель световых и темновых процессов фотосинтеза: проблема регуляции, Биофизика 38(6), 958–975, 1993;
2. Nguen T.T.F., Karelina T.A., and Kukushkin A.K.: Regulation of photosynthesis: Analysis of a model for sensitivity of delayed luminescence oscillation and the  $CO_2$  fixation rate to variation of the model parameters, Biophysics 52(5), Springer, 468–475, 2007;
3. Кукушкин А.К., Киржанов Д.В.: Теоретическое исследование модели фотосинтеза высших растений в широком диапазоне времён, Труды Ломоносовских чтений — 2008 (секция физики), 17 апреля 2008.

### Иницирование волнового процесса в реакции Белоусова-Жаботинского с помощью коллимированного пучка электронов с энергией 30 МэВ

*Круглов О.С.*

*Студент*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия*

*E-mail: [wg2@anna19.sinp.msu.ru](mailto:wg2@anna19.sinp.msu.ru)*

Реакция Белоусова – Жаботинского (БЖ) является автоколебательной реакцией со свойствами самоорганизации, присущими живым системам. Исследование воздействия на нее ионизирующего излучения позволяет в определенной степени моделировать первичные стадии этого воздействия на возбудимые биологические ткани. Последнее представляет интерес для радиобиологии, в том числе в связи с проблемой обеспечения радиационной безопасности пилотируемых полетов вне магнитосферы Земли, которая защищает все живое на Земле от космического излучения.

Реакция БЖ, как известно, является колебательной реакцией с возбудимой кинетикой. В этой реакции при взаимодействии ионов  $Se^{4+}$  с малоновой кислотой происходит их восстановление до  $Se^{3+}$ , которые впоследствии окисляются до  $Se^{4+}$  и т.д. При этом цвет раствора периодически меняется. Реакция идет до тех пор, пока не будут израсходованы все исходные реагенты.

В настоящей работе изучалось действие на реакцию БЖ электронов с энергией 30 МэВ. В качестве источника электронов использовался импульсный разрезной микротрон НИИЯФ МГУ.

Пучок электронов, сфокусированный магнитными квадрупольными линзами, выводился на воздух через окно с титановой фольгой толщиной 100 мкм. Затем этот пучок, коллимированный с помощью щели шириной 2 мм в свинцовой пластине толщиной 25 мм, попадал на четыре капилляра внешним диаметром 1.2 мм и толщиной

стенок 0.15 мм, расположенными в горизонтальной плоскости перпендикулярно пучку и содержащий раствор реакции БЖ.

Сверху капилляры просматривались веб-камерой, соединенной с помощью нескольких репитеров с удаленным компьютером. Облучение прекращалось сразу после появления инициированной волны в одном из капилляров. Через 1 – 1.5 мин. в этом капилляре наблюдалось возникновение новой волны (уже без дополнительного облучения). Этот процесс образования волн протекал многократно с одним и тем же периодом. Результат воздействия пучка на реакцию БЖ записывался в видеофайл от начала облучения до образования нескольких последовательных волн. Затем специальной программой цвет в анализируемых точках разлагался на RGB-составляющие. Полученные таким способом данные использовались для количественного анализа автоволновых процессов. Скорость распространения волны определялась с помощью визуальной фиксации положения ее фронта.

Инициирование волнового процесса в реакции Белоусова-Жаботинского с помощью коллимированного пучка электронов наблюдалось впервые. Порог поглощенной дозы для образования этих волн был оценен в  $2.0 \pm 0.5$  кГр.

### **Определение константы связывания люминесцентных зондов с альбуминами сыворотки и плазмы крови**

*Мельников А.Г.<sup>1</sup>, Наумова Е.В.<sup>2</sup>*

*Аспирант физического факультета, студентка факультета электронной техники*

<sup>1</sup>*Саратовский государственный университет*

<sup>2</sup>*Саратовский государственный технический университет*

E-mail: [agmelnikov@yandex.ru](mailto:agmelnikov@yandex.ru)

Работа посвящена исследованию процессов преобразования энергии электронного возбуждения молекул люминесцентных зондов, связанных с белками сывороточного альбумина человека (САЧ). Актуальность работы определяется важностью определения структурной динамики в белках на ранней стадии развития заболеваний, связанных с изменением структуры белков.

Исследования концентрационных зависимостей синглет-синглетного поглощения эозина и антрацена, выбранных нами в качестве полярного и неполярного люминесцентных зондов, позволили определить коэффициент экстинкции этих зондов, связанных с белками. По полученным коэффициентам экстинкции были определены концентрации зондов, локализованных в глобулах белка.

Известно, что триплет-триплетный перенос энергии протекает по обменно-резонансному механизму, реализующемуся на расстоянии 3-5Å. При увеличении расстояния между донором и акцептором более, чем на 5Å, перенос энергии не наблюдается, что дает возможность использовать этот процесс для регистрации внутримолекулярных структурных изменений в белках. Нами были экспериментально получены зависимости константы скорости затухания фосфоресценции донора энергии – эозина от концентрации акцептора энергии – антрацена, связанных с белками. Полученная зависимость была линейной в выбранном диапазоне концентраций акцептора, следовательно, угловой коэффициент этой зависимости представлял собой эффективную константу скорости переноса энергии. При добавлении поверхностно-активного вещества – додецилсульфата натрия, известного денатуранта, при концентрации гораздо меньше критической концентрации мицеллообразования, наблюдалось уменьшение константы скорости переноса энергии, что объяснялось нами внутримолекулярным изменением структуры белка.

Нами была проведена коррекция значений констант скорости переноса энергии с учетом неоднородного распределения и локализации донора и акцептора в глобулах белка. С этой целью были определены константы связывания донора и акцептора с

глобулами белка с помощью предложенного нами способа, основанного на тушении синглетных и триплетных состояний зондов тяжелыми атомами. Показано, что антрацен, относящийся к классу полициклических ароматических углеводородов, практически полностью локализован в гидрофобных областях белка. Полярный эозин за время жизни в триплетном состоянии имеет возможность переходить из одной глобулы белка в другую.

Нами были составлены и решены кинетические уравнения, описывающие процессы дезактивации триплетных состояний донора и акцептора с учетом неоднородного распределения и миграции молекул зондов в САЧ, что позволило объяснить зависимость константы скорости переноса энергии от концентрации САЧ.

---

Авторы выражают благодарность научным руководителям проф. Саратовского государственного университета, д.ф.-м.н. Кочубею В.И., и проф. Саратовского государственного технического университета, д. т. н. Плотникову П.К. за помощь при выполнении работы.

### **Моделирование взаимодействия микротрубочки с Dam1-кольцом**

*Муратов Александр Дмитриевич*

*Студент*

*Московский Государственный Университет имен М.В.Ломоносова, физический факультет, Москва, Россия*

*E-mail: [ad.muratov@physics.msu.ru](mailto:ad.muratov@physics.msu.ru)*

Задача точного распределения генетического материала по дочерним клеткам является критической для любой делящейся клетки. В эукариотической клетке за распределение хромосом отвечает веретено деления, состоящее из полюсов деления, образованных бывшими центриолями, микротрубочек и белков, связанных с микротрубочками. Сила,двигающая хромосомы – это сила, развиваемая деполимеризацией микротрубочек, которые прикреплены к хромосомам в специальных местах, названных кинетохорами. Механизм такого закрепления пока до конца не ясен, однако было показано, что митоз в клетках дрожжей в сильной степени зависит от присутствия на кинетохоре белка, формирующего декамерные кольца (так называемый Dam1-комплекс) вокруг микротрубочек. Это кольцо является наиболее вероятным кандидатом на роль белкового устройства, сопрягающего разборку микротрубочки и движение хромосом. Недавно были проведены эксперименты, в которых при помощи «лазерного пинцета» измерялась сила, с которой микротрубочка взаимодействует с шариком микронного размера, покрытым Dam1-комплексом. Измеренная величина силы оказалась заметно меньше предсказанной теоретически; предполагается, что это обусловлено особенностями геометрии экспериментальной установки.

В настоящей работе предлагается теоретическая модель для анализа эксперимента по измерению силы, развиваемой системой, состоящей из микротрубочки, Dam1-кольца и жёстко прикрепленного к кольцу шарика, помещенного в лазерную ловушку.

### **Литература**

1. Westermann, S., Avila-Sakar, A., Wang, H.-W., Niederstrasser, H., Wong, J., Drubin, D.G., Nogales, E. and Barnes, G. (2005). Formation of a Dynamic Kinetochores-Microtubule Interface through Assembly of the Dam1 Ring Complex. *Mol. Cell* 17, 277-290.
2. Salmon, E.D. (2005). Microtubules: A Ring for the Depolymerization Motor. *Current Biology* 15(8), 299-302.

3. Molodtsov, M.I., Grishchuk, E.L., Efremov, A.K., McIntosh, J.R., Ataulakhanov, F.I. (2005). Force production by depolymerizing microtubules: A theoretical study. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102(12), 4353-4358.
4. Grishchuk, E.L., Efremov, A.K., Volkov, V.A., Spiridonov, I.S., Gudimchuk, N., Westermann, S., Drubin, D., Barnes, G., McIntosh, J.R., Ataulakhanov, F.I. (2008). The Dam1 ring binds microtubules strongly enough to be a processive as well as energy-efficient coupler for chromosome motion. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105(49), 15423-15428.

### **Использование параллельных вычислений в задаче докинга**

**Оферкин И.В.<sup>4</sup>**

*Студент физического факультета*

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

*E-mail: [jackdaw@mail.ru](mailto:jackdaw@mail.ru)*

Одним из методов исследования белковых комплексов является компьютерное моделирование. Результаты такого моделирования находят применение не только в фундаментальных задачах сравнения белковых комплексов по их энергетическим характеристикам (например, с целью установления их эволюционной и функциональной близости), но и в ряде практических задач, таких как моделирование докинга в целях разработки лекарственных препаратов-лигандов, ингибирующих активный центр патогенного белка.

До недавних пор решение подобных задач заметно осложнялось высокими требованиями к вычислительным ресурсам. Современные кластерные архитектуры позволяют обойти это препятствие, но лишь при условии эффективного распараллеливания вычислений.

Основной вычислительной сложностью, возникающей при решении задачи докинга, является нахождение самого энергетически выгодного положения лиганда в активном центре белка. Математически это условие аналогично задаче поиска множества энергетических минимумов возле исходных конформаций белковых комплексов при их функциональном сравнении – в обоих случаях требуется найти локальный или глобальный минимум функции многих переменных. Одним из способов поиска глобального минимума является генетический алгоритм. Это вероятностный итерационный алгоритм, в котором по достаточно большому набору предыдущих вариантов пространственных конфигураций (положений лигандов) строится некоторым образом улучшенный их набор (следующее поколение конфигураций). Для статистического подтверждения корректности работы алгоритма он может быть запущен несколько раз с нуля с последующим сравнением результатов разных запусков.

При параллельных вычислениях на системах с локальной или распределенной памятью используется два варианта расчетов. Первый вариант основан на одновременном запуске нескольких экземпляров генетического алгоритма, осуществляемом с минимальными накладными затратами на синхронизацию процессов. Второй вариант представляет собой параллельную обработку массива пространственных конфигураций для генерации нового поколения конфигураций, при этом накладные расходы на синхронизацию процессов увеличиваются.

Существенными параметрами, влияющими на величину ускорения параллельной реализации алгоритма относительно последовательной, являются размер задачи,

---

<sup>4</sup> Автор выражает глубокую признательность своему научному руководителю, с.н.с. кафедры биофизики Иванову П.С., а также Сулимову А.В. за доступ к кластеру и советы в организации работы.

времена задержки и скорость передачи данных между процессами, устойчивость и однородность работы вычислительных узлов.

В работе осуществлено распараллеливание программы докинга SOL [1], входящей в программный комплекс проектирования лекарств Keenbase, в среде MPI. В качестве результатов приведены характеристики соответствующих расчетов на суперкомпьютере МГУ и выявленные особенности таких расчетов.

#### Литература

2. Романов А.Н., Кондакова О.А., Григорьев Ф.В., Сулимов А.В., Луцкекина С.В., Мартынов Я.Б., Сулимов В.Б. Компьютерная разработка лекарств: программа докинга SOL // Вычислительные методы и программирование, 2008, Т. 8, С.213-233.

### Бифуркационный анализ модели взаимодействующих искусственных генетических репрессилляторов

*Потапов И.С.*

*Студент*

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,*

*биологический факультет, Москва, Россия*

*E-mail: [elias.potapov@gmail.com](mailto:elias.potapov@gmail.com)*

Конструирование синтетических генетических регуляторных сетей позволяет изучать динамику генной регуляции, а также открывает множество приложений в биотехнологии: производство лекарственных препаратов и создание вычислительных устройств нового поколения. Первой генетической конструкцией, которая выявляет запрограммированное колебательное поведение, был репрессиллятор [1]. Эта сеть была реализована в клетках *Escherichia coli*. Репрессиллятор состоит из трех генов (Рис. 1), белковые продукты которых ингибируют друг друга в циклическом порядке. Продукт гена *lacI* ингибирует транскрипцию гена *tetR*. Продукт гена *tetR* ингибирует транскрипцию гена *cI*. Наконец, белковый продукт гена *cI* ингибирует экспрессию белка *LacI* и завершает цикл. В такую систему включена еще одна плазида, несущая ген, кодирующий зеленый флуоресцирующий белок GFP. GFP предназначен для визуализации колебаний.

В данной работе исследовалась модель, описывающая взаимодействие репрессилляторов посредством сигнальной молекулы (СМ), представляющей собой лактон ацилированной аминокислоты гомосерин. Эта маленькая молекула способна проникать через клеточную мембрану, осуществляя тем самым взаимодействие между клетками. Обмен такой сигнальной молекулой приводит к многим устойчивым ритмам. В дополнение к стандартным элементам репрессиллятора в отдельную плазмиду были добавлены еще два гена: *luxI* и *luxR*. Белок *LuxI* отвечает за биосинтез СМ. В свою очередь *LuxR* связывает СМ, и комплекс *LuxR*-СМ в дальнейшем активирует экспрессию целевого гена, дополнительного *lacI*.

Были рассмотрены два варианта модели, где экспрессию с гена *luxI* ингибирует: (а) *TetR* и (б) *LacI*, осуществляя связь между двумя плазмидами. Была проведена редукция уравнений для быстрых переменных и бифуркационный анализ системы. Найдены стационарные и противофазные колебательные решения в биологически значимой области параметров.

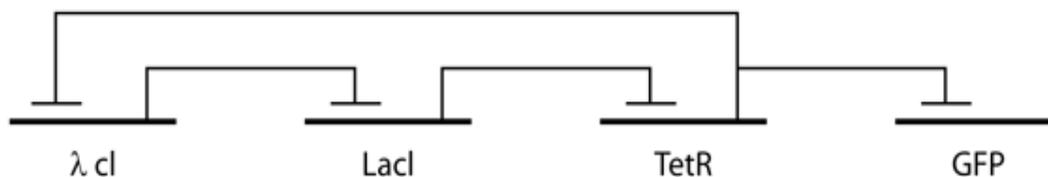


Рис 1: Репрессиятор.

### Литература

1. M.I. Elowitz, S. Leibler A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators, Nature, Vol. 403, 2000:335-338

### Изменение структуры архитектурного белка хроматина НМGB1 при связывании с ДНК<sup>5</sup>

**Родионова Т.Ю.**

*студентка*

*Санкт-Петербургский государственный университет,  
физический факультет, Санкт-Петербург, Россия*

*E-mail: [tatirod9@gmail.com](mailto:tatirod9@gmail.com)*

НМGB1 – это негистоновый белок хроматина семейства НМG (High Mobility Group), белков, проявляющих высокую электрофоретическую подвижность. Принадлежность белков к этой группе определяется по наличию типичного структурно-функционального НМGB-мотива. На сегодняшний день нет четкого представления не только о выполняемых НМGB1 функциях, но и о механизмах его взаимодействия с высокомолекулярной ДНК. Считается, что белок выполняет, прежде всего, структурную функцию в хроматине. Однако есть основания предполагать, что при взаимодействии с ДНК изменяются и свойства самого белка, что должно находить отражение в изменении его структуры. Мы предполагаем, что многообразие выполняемых функций в клетке может быть связано со способностью белка адаптироваться к структуре субстрата.

Ранее нами было показано [1], что связывание белка с ДНК характеризуется двумя способами связывания в зависимости от весового соотношения НМGB1/ДНК в растворе. В данной работе более подробно анализировался первый этап взаимодействия, который соответствует малым значениям  $r$ . В рамках работы с помощью спектроскопических методов (метода кругового дихроизма (КД) и спектрофотометрического плавления) проводились исследования изменений в структуре, как белка, так и ДНК в ходе комплексообразования. Основываясь на данных КД НМGB1, нами было показано, что при комнатной температуре  $\alpha$ -спиральность белка составляет около 30 %. Полученные нами данные, хорошо согласуются с данными термодинамических исследований других авторов [2], в ходе которых было показано, что доля  $\alpha$ -спиральных участков в молекуле НМGB1 заметно увеличивается при температуре ниже  $+5^\circ\text{C}$ , а при физиологических условиях в основном неупорядочен. При взаимодействии НМGB1 с ДНК  $\alpha$ -спиральность белка увеличивается с ростом содержания белка в пробе вплоть до весового соотношения белок/ДНК  $r = 0,4$ . Наблюдается увеличение на треть доли  $\alpha$ -спиральных участков в структуре связанного белка по сравнению с белком в свободном состоянии. Участок связывания НМGB1 на ДНК можно оценить в 80-100 п.о.

Для проверки термостабильности ДНК в комплексе анализировалась температура плавления ДНК при увеличении  $r$  в пробе. Несмотря на сильный изгиб двойной спирали

<sup>5</sup> Тезисы доклада основаны на материалах исследований, проведенных в рамках гранта Правительства Санкт-Петербурга для молодых ученых, студентов и аспирантов 2008 г. (грант: серия ПСП №080138).

<sup>5</sup> Автор выражает признательность, к. ф.-м. н., доценту Поляничко А.М. за помощь в подготовке тезисов.

ДНК в месте связывания HMGB1, нами было показано, что температура плавления ДНК в комплексе смещается в сторону высоких температур, при увеличении количества белка в комплексе.

### Литература

1. Е.В. Чихиржина, А.М. Поляничко, А.Н. Скворцов, Е.И. Костылева, К. Уссье, В.И. Воробьев (2002). HMGB1-домены: заложники обстоятельств. Молекулярная Биология, 36(3), с. 525-531.
2. Watson M., Stott K., Jean O. Thomas. (2007) Mapping Intramolecular Interaction between Domains in HMGB1 using Tail-truncation Approach. J. Mol. Biol. 374. 1286-1297.

### Влияние магнитного изотопа Mg на ферментативное фосфорилирование и развитие клеток E.coli.<sup>1</sup>

Шевченко У.Г.<sup>2</sup>

Студент

Оренбургский Государственный Университет,  
физический факультет, Оренбург, Россия  
E-mail: [shevulyana@yandex.ru](mailto:shevulyana@yandex.ru)

В цикле работ А.Л. Бучаченко с сотрудниками [1,2] обнаружено влияние магнитных изотопов Mg на ферментативное фосфорилирование, катализируемое различными ферментами (АТФаза, креатинкиназа и другие фосфоорилазы). Присутствие магнитного изотопа <sup>25</sup>Mg (ядерный спин I=5/2) в активных сайтах ферментов в 2-4 раза увеличивало скорость образования АТФ по сравнению с обычными, немагнитными изотопами <sup>24,26</sup>Mg. Такое влияние ядерного спина <sup>25</sup>Mg объясняется ион-радикальным механизмом присоединения фосфатных групп к АДФ [1]. Этот механизм способен объяснить влияние магнитных полей на подобные ферментативные реакции и последующие биологические процессы [3,4].

Цель данной работы – поиск и изучение биологических эффектов магнитного изотопа <sup>25</sup>Mg *in vivo*. В качестве объекта исследования использовались клетки *Escherichia coli*. Микроорганизмы культивировались в жидких питательных средах, содержащих изотопы <sup>24</sup>Mg, <sup>25</sup>Mg или <sup>26</sup>Mg (степень обогащения изотопом не менее 98.8 % ат.) в эквимолярных концентрациях. Обнаружено, что в логарифмической фазе клетки на среде с магнитным изотопом <sup>25</sup>Mg растут в среднем на 15-20% быстрее, чем на среде с немагнитными изотопами <sup>24</sup>Mg или <sup>26</sup>Mg. Обнаружены также существенные различия значений максимальной клеточной биомассы, достигаемой в стационарной фазе, в зависимости от типа изотопа (магнитный/немагнитный).

### Литература

1. Бучаченко А.Л. (2007) Новая изотопия в химии и биохимии. М.: Наука.
2. Бучаченко А.Л., Кузнецов Д.А. (2008) Ядерно-магнитное управление синтезом энергоносителей в живых организмах // Вестник Российской Академии Наук. Том 78, №7, с. 579-583.
3. Shevchenko U., Berdinskiy V. (2007) Enzymatic phosphorylation as the example of magnetosensitive spin dependent process, International Conference on Magneto-Science ICMS2007, Hiroshima, Japan, p.133.
4. Anatoly L. Buchachenko and Dmitry A. Kuznetsov (2008) Magnetic Field Affects Enzymatic ATP Synthesis // J.Am.Chem.Soc., Vol.130, No.39, 12868-12869.

<sup>1</sup>Тезисы докладов основаны на материалах исследований, проведенных в соответствии с грантом РФФИ № 07-03-00897.

<sup>2</sup>Автор выражает признательность своим научным руководителям д.б.н. В.К. Кольтоверу и д.м.н. Д.Г. Дерябину.