

Тезисы научных работ

Победителей Всероссийского конкурса научных работ школьников Юниор

По биологии и экологии (учащихся 11-го класса)

2013-2014 учебный год

Влияние первичной последовательности микроцина в *escherichia coli* на процесс его созревания

Еремина Александра

Москва, ГБОУ ЦО №57 «Пятьдесят седьмая школа», 11 класс

Руководитель: Пискунова Юлия Валерьевна, аспирант Института биологии гена РАН

В настоящее время известно большое число пептидов, в процессе созревания которых в их структуру вносятся оксазольные и тиазольные гетероциклы, - это микроцины (ТОММ). [1] Изучение ТОММ является весьма перспективным в связи с тем, что уже сейчас известны случаи их практического применения. [2, 3] Некоторые найденные пути химического синтеза представителей этого семейства являются весьма затратными и сложными, поэтому большие надежды возлагаются на изучение, синтез и разработку представителей данного класса веществ с использованием биотехнологических методов. Микроцин В является типичным и наиболее изученным представителем ТОММ.

Антибактериальный пептид микроцин В (microcin B) используется бактериями во внутривидовой и межвидовой борьбе. [4] Механизм его действия связан с его способностью ингибировать работу бактериального фермента ДНК-гиразы, что приводит к гибели клеток [5,6]. Как известно, генетический аппарат бактерий представлен в виде замкнутой цепи ДНК, а поэтому при репликации ДНК возникает явление сверхспирализации. Разделение полученных ДНК является необходимым для дальнейшего успешного функционирования клетки и выполняется классом ферментов - топоизомераз, способных изменять топологию ДНК. В частности, ДНК-гираза, одна из разновидностей топоизомераз, способна осуществлять процесс разъединения цепей посредством введения двухцепочечных разрывов в структуру ДНК, а затем раскручивать их и сшивать в две отдельные кольцевые молекулы. [7] Микроцин В воздействует на ДНК-гиразу в момент нанесения двухцепочечных разрывов, ингибируя дальнейшее действие фермента. [8]

Информация о генах, кодирующих пептид-предшественник микроцина В и белки, осуществляющие посттрансляционные модификации этого пептида, содержится на плазмиде в едином опероне, состоящем из 7 генов: *mcbA-G*. Ген *mcbA* кодирует пептид-предшественник микроцина. Посттрансляционные модификации *mcbA* осуществляются тремя ферментами: *McbB*, *McbC*, *McbD*. Белки, кодируемые генами *mcbE* и *mcbF*, осуществляют экспорт зрелого антибиотика из клетки хозяина, а ген *mcbG* обуславливает резистентность бактерии-хозяина к действию антибиотика.

Зрелый микроцин содержит 8 гетероциклов в своей структуре: это 4 оксазольных и 4 тиазольных кольца, образующихся при модификации цистeinовых и сериновых остатков, содержащихся в пептиде-предшественнике. [9] Изначально считалось, что гетероциклизация происходит последовательно с одного конца молекулы на другой, но некоторые данные указывают на иное течение процесса гетероциклизации: после окончания последовательного образования циклов возможно образование новых циклов в различных частях цепи. [10] Это позволило предположить, что утверждение о последовательности образования циклов в пептиде-предшественнике является ложным.

Целью данной работы является выяснение порядка течения процесса гетероциклизации, для подтверждения высказанной гипотезы. В ходе исследования произошло изменение генетической последовательности *mcbA* посредством делеции некоторых генов, кодирующих аминокислотные остатки, подвергающиеся гетероциклизации в процессе формирования антибиотика (*ser40-cys41*, *cys51-ser52*, *cys55-ser56*). Таким образом, в полученных мутантах уменьшалось количество потенциально возможных гетероциклов в составе микроцина. Такой эксперимент позволяет проверить предположение о непоследовательном формировании оксазоловых и тиазоловых колец в антибиотике: при зависимости формирования одного гетероцикла от сформированности предыдущего в изучаемых мутантах не должны циклизоваться серины и цистеины, находящиеся в гене после делеции. В течение исследования мутантные гены нарабатывались в различных клетках с использованием плазмид *pBAD* и *pUC19*, были использованы методы рестрикции, легирования,

ПЦР, электрофорез, сиквенирование и др. Данная работа также предполагает изучение зависимости эффективности действия антибиотика от используемых делеций: в настоящий момент эти исследования проводятся в лаборатории.

Выявление действительного порядка гетероциклизации остатков серина и цистеина в пептиде-предшественнике микроцина В, является важным направлением исследований по изучению данного антибиотика. Определение последовательности механизмов образования циклов создает возможности для разработки новых синтетических антибиотиков на основе микроцина В, обладающих нужными человеку фармацевтическими свойствами. Ввиду быстрого возникновения резистентности бактерий к используемым препаратам на основе антибиотиков лекарственный рынок постоянно нуждается в новых веществах, позволяющих бороться с патогенными микроорганизмами. Микроцин В, возможно, станет одним из новых используемых в данной сфере компонентов.

Литература:

1. Melby, J. O., Nard, N. J. & Mitchell, D. A. Thiazole/oxazole-modified microcins: complex natural products from ribosomal templates. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 15, 369–378 (2011).
2. Ho, D. D. et al. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 373, 123–126 (1995).
3. Salvatella, X., Caba, J. M., Albericio, F. & Giralt, E. Solution Structure of the Antitumor Candidate Trunkamide A by 2D NMR and Restrained Simulated Annealing Methods. *J. Org. Chem.* 68, 211–215 (2003).
4. Baquero, F., Bouanchaud, D., Martinez-Perez, M.C., and Fernandez, C. Microcin plasmids: a group of extrachromosomal elements coding for low-molecularweight antibiotics in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 135: 342–347.(1978);
5. K. Severinov, E. Semenova, A. Kazakov, T. Kazakov and M.S. Gelfand. Low-molecular-weight post-translationally modified microcins. *Molecular Microbiology* (2007) 65(6), 1380–1394;
6. F. J. del Castillo, I. del Castillo and F. Moreno, *J. Bacteriol.*, 2001, 183, 2137–2140; J. L. Vizan, C. Hernandez-Chico, I. del Castillo and F. Moreno, *EMBO J.*, 1991, 10, 467–476;
7. J. Piton, S. Petrella, C. Mayer et al. Structural Insights into the Quinolone Resistance Mechanism of *Mycobacterium tuberculosis* DNA Gyrase. *PLoS ONE*, August 2010, Vol. 5, Issue 8, e12245;
- 8 .M. Herrero and F. Moreno, *J. Gen. Microbiol.*, 1986, 132, 393–402;
9. Y. M. Li, J. C. Milne, L. L. Madison, R. Kolter and C. T. Walsh, *Science*, 1996, 274, 1188–1193;
10. Roy, R. S., Belshaw, P. J. & Walsh, C. T. Mutational Analysis of Posttranslational Heterocycle Biosynthesis in the Gyrase Inhibitor Microcin B17: Distance Dependence from propeptide and tolerance for substitution in a GSCG cyclizable sequence. *Biochemistry* 37, 4125–4136 (1998).

Применение программно-аппаратного комплекса "Корректор сна" для улучшения функционального состояния человека

Кочанков Олег Игоревич

МБОУ ДОД СЮН, г. Саров Нижегородской области, 11 класс

Научные руководители: Столяров Игорь Васильевич, учитель математики и информатики, МБОУ «Лицей № 3»,
Макеева Марина Алексеевна, заместитель директора по учебной работе МБОУ ДОД СЮН

Сон - это время, когда мы не просто пассивно бездействуем. В этот период мы активно восстанавливаемся физически и психологически для дальнейшего активного бодрствования. Поэтому так важно иметь полноценный и регулярный сон. Нарушение сна – важная проблема современной медицины. Несмотря на то, что продолжительность сна у здорового человека практически постоянна на протяжении жизни - от 20 до 75 лет, жалобы на качество сна с возрастом появляются все чаще.

Цель работы: исследовать возможности применения аппаратно-программного комплекса «Корректор сна» для улучшения качества сна.

Задачи работы:

1. Сконструировать аппаратно-программный комплекс «Корректор сна».
2. Изучить индивидуально-личностные особенности людей, добровольно согласившихся на эксперимент.
3. Провести анализ изменений структуры сна и закономерности изменений психологических показателей до и после использования применения аппаратно-программного комплекса «Корректор сна».

Актуальностью исследования является коррекция сна у здоровых людей, нормализация сна у людей с признаками неблагополучия и расстройствами сна. Также данная методика будет интересна людям, интересующимся возможностями самопознания и самосовершенствования в фазе «быстрого сна». Действие ПАК «Корректор сна» направлено на изменение человеком отношения к своим проблемам, что дает ему возможность модифицировать свое реальное поведение. Исходя из этого, он может применяться для реабилитации людей, имеющих предрасположенность к наркотической и алкогольной зависимости, так как происходит замещение наркотической или алкогольной зависимости положительным влиянием прибора.

Основой методики создания нашего программно-аппаратного комплекса «Корректор сна» для коррекции и нормализации сна является комплексный подход к коррекции сновидческой деятельности использующий многофункциональное (световое, тактильное, слуховое) воздействие на человека, причем возможно воздействие сразу нескольких из них, что дает возможность его применения в различных режимах.

Важным отличием созданного программно-аппаратного комплекса от аналогов является беспроводное управление с использованием компьютера, а также накопление в компьютере данных о срабатывании ПАК «Корректор сна» во время сна и возможности подбора оптимальных параметров воздействия.

В состав программно-аппаратного комплекса входят:

1. Мaska с автоматической обработкой движения глаз под веками во время сна и световизуальными блоками, управление которыми осуществляется микроконтроллером.
2. Наручный манжет с вибромоторами, находящимся в нем, оказывающими тактильные воздействия под управлением другого микроконтроллера.
3. Программная часть - центральное управление осуществляется с помощью программы с компьютера по беспроводной связи.

Программа «FairySleep v.1.0» осуществляет центральное управление устройствами, входящими в ПАК «Корректор сна». Она создана авторами данного комплекса, программа прошла государственную регистрацию в Роспатенте (свидетельство № 2013660575) и поданы документы на изобретение данного способа.

Данный прибор прошел предварительные консультации и испытания в многопрофильном медицинском центре «Академия здоровья» (г. Саров), которые показали его эффективность, и он был рекомендован к проведению клинических испытаний. Прибор не является медицинским, однако при дальнейшем исследовании, возможна регистрация его как медицинского прибора. В ходе

исследований 20 добровольно согласившихся человек, прошло анкетирование до и после применения прибора «Корректор сна».

Использование прибора «Корректор сна» в течение 7 дней приводило к улучшению субъективной оценки сна испытуемых. Инсомния достоверно уменьшилась на 25%. По сну в целом уменьшилось время засыпания и количество пробуждений на 30%. Проведено сравнение результатов анкетных методов исследования и психологических тестов испытуемых с инсомнией до и после терапии нарушений сна. У испытуемых с инсомнией после применения прибора «Корректор сна» отмечено снижение уровня сонливости, депрессии и достоверное снижение уровня реактивной тревожности на 25%. У 62,5 % испытуемых с нарушением сна сон стал более полноценным. Они не чувствовали дневной сонливости и отмечали хорошее самочувствие сразу после пробуждения. У 30% испытуемых уменьшилось время засыпания. У 50% испытуемых из групп с жалобами на нарушения сна положительные эмоциональные сновидения стали преобладать над кошмарными и их стало труднее вывести из эмоционального равновесия. 10% испытуемых после применения маски отмечают, что они стали осознавать, что видели сон и даже, в той или иной мере, управлять его содержанием. 50 % испытуемым из групп с жалобами на нарушения сна применение маски помогло избавиться от некоторых комплексов.

Вывод: созданный программно-аппаратный комплекс, сочетающий в себе аппаратную и программную части показал свою полную эффективность для коррекции и нормализации сна.

Литература

1. Вейн А.М., Хект К. Сон человека. Физиология и патология: Пер. с англ. – М.: Мир, 1989. – 150с.
2. Борбели А. Тайна сна. – М.: Знание, 1989. – 192с.
3. Столяров И.В., Кочанков О.И. Принципы решения некоторых технических задач при конструировании прибора «Корректор сна». – Наука и образование в XXI веке. - Сборник научных трудов по материалам Международной заочной научной конференции. – Тамбов: Изд-во ТРОО «Бизнес-Наука-Общество», 2013.
4. Лаберж С. Осознанные сновидения. М.: София, 2009. – 320с.
5. <http://www.mindmachine.ru/>

Сукцессии растительности антропогенно-изменённых ландшафтов окрестностей посёлка

Красное и государственного природного заповедника «Ненецкий»

Ледкова Полина

МБОУ Заполярного района «СОШ п. Красное», п. Красное, Ненецкий автономный округ, класс 10

Научный руководитель: Панарина Наталия Геннадьевна, кандидат биологических наук, учитель биологии и химии
МБОУ Заполярного района «СОШ, п. Красное», внештатный научный сотрудник ФГБУ «Кандалакшский заповедник».

Актуальность. В окрестностях посёлка Красное местные жители на пойменных лугах вырезают дернину и используют её для озеленения подворий. Тундровые ландшафты окрестностей посёлка сильно нарушены в результате техногенной деятельности. На территории заповедника «Ненецкий» находится 30 заглушенных скважин газового конденсата Кумжинского месторождения (Скоробогатько, 2003; Толкачев, 2000). В районе скважин растительность была уничтожена.

Гипотеза. Если антропогенно-изменённые ландшафты разнотипны, то сукцессии растительности на них протекают с разной скоростью и различаются стадиями развития.

Цель работы. Изучить сукцессии растительности антропогенно-изменённых ландшафтов разного типа в окрестностях посёлка Красное и на территории заповедника «Ненецкий». Для достижения цели поставлены и решены следующие задачи: 1) проследить основные стадии зарастания нарушенных ландшафтов пойменных лугов окрестностей посёлка Красное, выявить пионерные виды сосудистых растений; 2) изучить ход сукцессионных процессов антропогенно-нарушенных ландшафтов тундры и лесотундры окрестностей п. Красное; 3) изучить особенности сукцессий, протекающих в окрестностях буровых скважин Кумжинского месторождения (заповедник «Ненецкий»); 4) определить видовой состав сосудистых растений, участвующих в зарастании нарушенных экосистем; 5) Разработать рекомендации по сохранению пойменных лугов и рекультивации тундровых ландшафтов в окрестностях посёлка.

Научная новизна. Впервые на территории Ненецкого автономного округа изучены сукцессии растительности антропогенно-изменённых ландшафтов разного типа, выявлены основные стадии первичных и вторичных сукцессий.

Практическая значимость. Данные работы являются основой для дальнейших мониторинговых работ, позволяют прогнозировать ход сукцессионных процессов нарушенных экосистем. Разработанные рекомендации позволяют повысить уровень экологической культуры местного населения, сохранить пойменные луга и рекультивировать нарушенные ландшафты тундры и лесотундры в окрестностях посёлка.

Объект исследований. Растительность антропогенно-изменённых ландшафтов окрестностей посёлка Красное и государственного природного заповедника «Ненецкий».

Предмет исследований. Сукцессии растительности антропогенно-изменённых ландшафтов разного типа в окрестностях п. Красное и на территории заповедника «Ненецкий».

Материалом работы явились результаты исследований, проведённых в июне - сентябре 2013 года в окрестностях посёлка Красное и на территории заповедника «Ненецкий».

Методы исследований: 1) маршрутный (выявление антропогенно-изменённых ландшафтов, видового состава сосудистой флоры); 2) стационарный (заложение пробных площадей, выполнение геоботанических описаний, геоботаническое картирование); 3) лабораторный (гербаризация и определение растений, обработка материала); 5) сравнительный анализ (сравнение полученных результатов с данными научной литературы); 6) статистическая обработка данных (определение среднего значения проективного покрытия на пробных площадях, отклонения от среднего); 7) моделирование; 8) метод сукцессионных связей. При помощи этого метода (Миркин, 1984; Миркин, Наумова, 1984; 1998) установлены пространственные фитоценотические ряды, которые позволяют оценить смены растительных сообществ во времени. По общепринятым методикам (Александрова, 1964; Воронов, 1973; Ярошенко, 1961) выполнено 110 геоботанических описаний растительных сообществ. Чаще всего в процессах зарастания встречаются овсяница овечья, полевица гигантская, пижма обыкновенная. Эти растения являются активными ценозообразователями.

Выделены следующие типы сукцессий: 1) *Первичные сукцессии на каменисто-песчаном субстрате дамбы у скважины №9*. В 1981 г. здесь произошла авария, в результате которой в течение шести лет в реку Печора выбрасывались газ и нефть. Последствия этой аварии частично

удалось ликвидировать только в 1987 г. (Толкачев, 2000). Для охраны русла реки от загрязнения аварийный район оградили дамбой. Песчаный субстрат зарастает по типу первичной сукцессии. Растительность склонов дамбы резко отличается между собой. На северном склоне она развита крайне слабо. Здесь встречены единичные экземпляры трёхрёберника Гуккера, овсяницы овечьей. Прогнозируя ход сукцессий, можно предположить, что зарастание склонов дамбы будет происходить по природному типу и закончится формированием ивово-осоково-разнотравных сообществ.

2) *Вторичные сукцессии на антропогенно-нарушенных ландшафтах тундры и лесотундры* (окрестности п. Красное). Зарастание здесь происходит за счётrudеральных видов и небольших островков растительности, где сохранился банк семян.

3) *Восстановительные сукцессии на антропогенно-нарушенных ландшафтах пойменных лугов, испытывающих в настоящее время антропогенную и пасквальную нагрузку* (окрестности п. Красное). Пойменные луга тянутся вдоль русла реки Красновский Шар. Мы выявили 35 участков размером от 1 до 150 м² с уничтоженной растительностью. С обнаруженных участков люди снимали дернину в разное время, поэтому они находятся на разных стадиях зарастания. Видовое разнообразие разнотравья значительно ниже, чем на ненарушенных пойменных лугах и не превышает 14 видов сосудистых растений.

4) *Восстановительные сукцессии на антропогенно-нарушенных ландшафтах пойменных лугов, которые в настоящее время не испытывают антропогенную нагрузку* (заповедник «Ненецкий», остров №14). Здесь восстановление растительности происходит гораздо быстрее. В районе скважины №14, законсервированной в 1979 г., произошло формирование устойчивых ивово-разнотравных сообществ. Отмечено 22 вида сосудистых растений, что намного больше, чем на остальных пробных площадях. Остров характеризуется значительным разнообразием птиц.

Сравнивая полученные данные с результатами исследований К. Федина (Федина, 2008, 2009), Н.Г. Панаевой и В. Савиновой (Панаина, Савинова, 2011), проведённых в Мурманской области, мы выяснили, что некоторые виды сосудистых растений являются активными ценозообразователями в разных природных зонах. Овсяница овечья, полевица гигантская и мятыник луговой являются пионерами зарастания нарушенных биогеоценозов как тундры, так и boreальных лесов. Интересно, что на Крайнем Севере так же, как в boreальной зоне инициаторами процессов зарастания могут быть старые деревянные конструкции, которые накапливают влагу и являются хорошим субстратом для формирования растительных сообществ.

Выводы

1. На начальных стадиях зарастания пойменных лугов преобладают сообщества низкотравных злаков (овсяница овечья, мятыник альпийский, мятыник луговой), которые сменяются разнотравно-злаковыми ценозами. Пионерами зарастания являются овсяница овечья, тысячелистник обыкновенный, чемерица лобеля, мятыник луговой.
2. Сукцессионные процессы нарушенных тундровых и лесотундровых ландшафтов протекают крайне медленно. Исходные кустарничково-лишайниковые сообщества не восстанавливаются. На обнажённом субстрате селятся луговые травы, которые затем сменяются ивово-разнотравными ценозами.
3. На территории заповедника «Ненецкий», в окрестностях буровой скважины №9, выявлены первичные сукцессии, протекающие на галечно-песчаном субстрате построенной дамбы. Выявлено, что в районе скважины №14 произошло восстановление исходных ивово-разнотравных сообществ. Нарушенные тундровые ландшафты у скважин №1,2 зарастают злаками с разнотравьем, на смену которым приходят ивово-разнотравные ценозы.
4. В процессах зарастания участвует 58 видов сосудистых растений из 46 родов, 25 семейств, 3 классов, 2 отделов.
5. Жителям посёлка рекомендуем для озеленения подворий высевать семена луговых трав, для ускорения процессов зарастания нарушенных тундровых и лесотундровых ландшафтов укреплять песчаный субстрат деревянными конструкциями.

Таким образом, выдвинутая гипотеза подтвердилась. Изученные антропогенно-изменённые ландшафты разнотипны, поэтому сукцессии растительности на них протекают с разной скоростью и различаются стадиями развития.

Список научной литературы

1. Александрова В.Д. Изучение смен растительного покрова.//Полевая геоботаника. М.–Л.: Наука, 1964. Т. 3. С. 300–447.
2. Воронов А.Г. Геоботаника. - М.: Высшая школа, 1973. – 383 с.
3. Миркин Б.М., Наумова Л.Г. Динамика растительности: история и современное состояние теории // Успехи соврем. биологии. 1999. Т. 119. №1. С. 15–29.
4. Миркин Б.М., Розенберг Г.С. Фитоценология. Принципы и методы. - М.: Наука, 1987. 212 с.
5. Миркин Б.М. Антропогенная динамика растительности // Итоги науки и техн. Сер. ботаника. - М., 1984. - Т. 5. - С. 139-232.
6. Миркин Б.М., Наумова Л.Г. О сукцессиях растительных сообществ // Экология. - 1984. - №6. - С. 3-13.
7. Миркин Б.М., Наумова Л.Г. Наука о растительности (история и современное состояние основных концепций). - Уфа: Гилем, 1998. - 413 с.
8. Скоробогатько К. Ненецкий автономный округ. Тула, 2003. – 160 с.
9. Панарина Н.Г., Савинова В.Д. Современное состояние шахт свинцово-серебряных рудников заповедных островов Порьей губы (Кандалакшский залив, Белое море) // Летопись природы Кандалакшского заповедника. 2011г.
10. Толкачев В. Дороги к нефти. – Архангельск, 2000. – 608 с.
11. Федина К. Наблюдение за ходом восстановительных сукцессий в карьерах района поселка Умба и на острове Горелом в 2007 – 2008гг. (Кандалакшский залив, Белое море). Рукопись, архив Кандалакшского заповедника. 2008 – 35 с.
12. Федина К. Наблюдение за ходом восстановительных сукцессий на территории Кандалакшского заповедника и района поселка Умба (Кандалакшский залив, Белое море, 2007 – 2010гг.) //Шаг в будущее: Научные труды молодых исследователей программы «Шаг в будущее». Том – 3. – Мурманск, 2009. – С. 41
13. Ярошенко П.Д. Геоботаника. Основные понятия, направления и методы. М.–Л.: Изд-во АНС-ССР, 1961. 474 с.