

**Всероссийская молодежная
конференция
«Экспериментальная и
теоретическая биофизика'17»**

**СБОРНИК ТЕЗИСОВ
ПРОГРАММА**

**г. Пущино
ФГБУН Институт теоретической
и экспериментальной
биофизики РАН**

1 ноября 2017 г.



**ФАНО
России**
ФЕДЕРАЛЬНОЕ
АГЕНТСТВО
НАУЧНЫХ
ОРГАНИЗАЦИЙ



РАЗРАБОТКА НОВОГО МЕТОДА КОНТРАСТИРОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ ДЛЯ СКАНИРУЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ

Суббот А.М.¹, Фёдоров А.А.¹, Грибоедова И.Г.¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт глазных болезней»

kletkagb@gmail.com

Актуальностью является пробоподготовка для электронной микроскопии – это традиционно весьма трудоемкий и многоступенчатый процесс, что снижает доступность этого метода исследования. Необходимо разработать методику контрастирования нативных тканей для исследования клеточной структуры в обратно-рассеянных электронах на СЭМ без напыления и предварительного обезвоживания. Задачами являются:

- Изучение участия различных солей тяжелых катионов в обменных процессах клетки по литературным данным

- Выбор оптимальной группы веществ, катионы которых способны накапливаться на биологических мембранах без существенного изменения клеточной структуры

- Разработка протокола препарации биологических образцов

- Подбор оптимальных режимов исследования на СЭМ.

В качестве биологических образцов использовались:

- интактная конъюнктивка кадаверного глаза,

- культура конъюнктивального эпителия, полученная методом экспланта.

В качестве контрастирующего агента использовали раствор хлорида редкоземельного металла - неодима. После выдержки в контрастирующем веществе, пробу отмывали избытком дистиллированной воды и переносили на углеродный скотч для последующей съемки. Съемка проводилась на сканирующем электронном микроскопе EVO LS – 10 (Carl Zeiss) с ЭДС Oxford MAX 50, режим низкого вакуума 70-80 Па, ускоряющее напряжение 20 kV.

Результаты

- Обоснован выбор хлорида неодима для контрастирования биологических образцов, как нейтральной соли, имеющей катион с высоким атомным номером, обладающей умеренной токсичностью, блокирующей кальциевые насосы и каналы и тем самым фиксирующейся в определенных внутриклеточных структурах;

- Разработан протокол препарации биологических тканей (оптимальная навеска «красящего» вещества, время выдержки образца в растворе и т.д.);
- Подобраны и опробованы оптимальные режимы исследования на СЭМ;
- Подана заявка на изобретение: RU 2014143965 от 12.11.2014 «Способ подготовки биологической ткани к сканирующей электронной микроскопии».

К ВОПРОСУ О ВОЗМОЖНОЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РОЛИ АГРЕГАЦИИ ТИТИНА *IN VIVO*

Якупова Э.И.¹, Вихлянцева И.М.^{1,2}, Бобылёв А.Г.^{1,2}

¹ ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Пушино, Россия

²Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино,
Россия

yakupova.mira@mail.ru

Исследования агрегации доменов титина — гигантского многодоменного белка поперечно-полосатых и гладких мышц проводятся с 1999 года. В ходе экспериментов было показано, что агрегации доменов белка может способствовать высокая идентичность в их аминокислотной последовательности (>30-40%). При этом было обнаружено, что при агрегации титина формируются неправильно свернутые конформации, некоторые из которых были названы «внутримолекулярные амилоиды». В проведенных нами недавно исследованиях показана способность целых молекул гладкомышечного титина формировать амилоидные агрегаты *in vitro* с высокой скоростью. При чем, в отличие от других белков, образующих амилоиды в экстремальных условиях (при температуре 37-100°C, кислых значениях pH, в течение суток и более), титин формировал амилоидные агрегаты в течение 20-30 минут в буфере с ионной силой близкой к физиологической, при температуре 4-24°C и pH 7,2-7,4.

В настоящее время не подвергается сомнению роль титина в опосредовании упругоэластичных свойств мышечных клеток. Показано, что упругоэластичные свойства титиновых молекул регулируются как за счет изменения их длины в Иzone саркомера, так и за счёт посттрансляционных модификаций. Принимая во внимание наши данные о способности титина агрегировать *in vitro*, нельзя исключить возможность связывания *in vivo*