



*Институт биоорганической химии
им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН
Научный совет по биоорганической химии РАН*

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

**V чтений, посвященных
памяти академика Ю.А.Овчинникова
«Биоорганика-2000»**

13-20 ноября 2000 г.

Москва - Пущино



*Институт биоорганической химии
им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН
Научный совет по биоорганической химии РАН*

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

**V чтений, посвященных
памяти академика Ю.А.Овчинникова
«Биоорганика-2000»**

13-20 ноября 2000 г.

Москва - Пущино

**ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ
СОТРУДНИКОВ ИБХ РАН**

МЕТОДИКА ПОЛУЧЕНИЯ БОЛЬШИХ СЕРИЙ УЛЬТРАТОНКИХ СРЕЗОВ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СТЕРЕОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА СИНАПСОВ Ц.Н.С. И ДЛЯ ТРЕХМЕРНЫХ РЕКОНСТРУКЦИЙ

*Попов В.И., Шибаев Н.В., Медведев Н.И., Рогачевский В.В. *,
Хуцян С.С. *, Садовников В.Б.*

НПП «Биоцентр»

*Институт биофизики клетки РАН

В настоящее время очевидна роль серийных ультратонких срезов для непредвзятого стереологического анализа количественных и качественных изменений синапсов в ц.н.с. [1,2] после различного рода воздействий на мозговую ткань, включая изучение механизмов синаптогенеза и долговременной памяти [3]. В настоящем сообщении на конкретном примере изучения различных клеточных и субклеточных структур астроглиальных клеток и нейронов из гиппокампа грызунов, а также вкусовых рецепторных клеток предлагается относительно простая методика получения более 100 серийных срезов для последующих трехмерных реконструкций субклеточных структур, дендритов, аксонов и синапсов по доступным программам на базе IBM PC. После фиксации обезвоженные образцы заключают в эпоксидную смолу следующего состава: эпон 812 (или его аналог) - 22,5 мл; аралдит М (или аралдит CY212, 502, 506) – 22,5 мл; DDSA-60 мл; DMP-30 – 0,6 мл. С образцов готовятся полутонкие срезы, в которых визуально определяется интересующая область ткани. Используя левый край стеклянного ножа, выступающего в качестве резца, в этой области готовится "колонна" высотой около 30-50 μm , имеющая в сечении прямоугольник, одна из сторон которого составляет 10-20 μm , тогда как другая может иметь любую длину. Скорость резки блока подбирается экспериментально, а весь процесс приготовления «колонны» ведется под визуальным контролем с помощью бинокулярного микроскопа. С помощью «алмазного ножа», как правило на микротоме «Reihert» (Austria), готовятся ультратонкие срезы обычно толщиной 50-90 нм. Скорость резки подбирается экспериментально. Срезы образуют «ленты». Для большей их стабильности снижают поверхностное натяжение воды путем добавления в ванночку этанола/метанола, концентрация

которого подбирается экспериментально. Обычно число срезов в «ленте» не превышает 50, которые легко снимаются на медные или никелевые (для иммуногистохимии) сеточки с одним крупным отверстием, покрытым пленкой из Pioloform. Пленки готовятся стандартным путем из 1.5-2% Pioloform, приготовленном в хлороформе. В случае, когда размеры срезов малы, на сетку можно одновременно поместить 2-3 «ленты», то есть сразу около 150 срезов, резко облегчая последующую работу с ними. Срезы окрашиваются стандартным способом в уранилацетате и цитрате свинца. С помощью специального вращающегося держателя для сеточек и гониометра проводятся предварительная «настройка» срезов и их съемка при разных увеличениях. Комплекс программ для трехмерной реконструкции включает «настройку» последовательных срезов, приготовление контуров интересующих структур, создание трехмерного изображения и его количественный и качественный анализ.

В докладе на базе IBM PC демонстрируются конкретные примеры трехмерных реконструкций различных клеточных и субклеточных структур нейронов, организация астроцитарной сети в различных областях гиппокампа, сравнительная трехмерная структура вкусовых клеток у активных и гибернирующих сусликов.

[1] Coggeshall R.E., Lekan H.A. Methods for determining numbers of cells and synapses: a case for more uniform standards of review. *J. Comp. Neurol.*;364(1):6-15; 1996. [2] West M.J. Stereological methods for estimating the total number of neurons and synapses: issues of precision and bias. *Trends Neurosci.*;22(2):51-61; 1999. [3] Fiala J.C., Feinberg M., Popov V., Harris K.M. Synaptogenesis via dendritic filopodia in developing hippocampal area CA1. *J.Neurosci*;18(21):8900-8911, 1998

Поляков Н.Б.	14	Сичкарь С.А.	57
Пономарёв Е.Д.	41	Скосырев В.С.	103, 104
Пономаренко Н.А.	28, 30, 32	Смирнова Е.В.	11
Попов В.И.	98	Соколов Д.И.	67
Попов М.Е.	36	Соколов С.Л.	101
Попова Л.И.	102, 103	Соколова Е.А.	33
Поройко В.А.	92	Старков В.Г.	9
Прохоров В.В.	59	Стукачева Е.А.	48
Прошкин С.А.	26	Сурина Е.А.	12
Прошкина Г.М.	26	Суровой А.Ю.	67, 70
		Суханов С.В.	15
Ракитина Т.В.	11	Сухачева Е.А.	70
Ракова Н.	87	Сучков С.В.	32
Ребриков Д.В.	75	Сыкилинда Н.Н.	18
Ревазова Е.С.	37	Сычев С.В.	77
Рейбарх М.Я.	55		
Решетняк Т.М.	48	Таран С.А.	96, 97
Ржевский Д.И.	91	Тарасенко Т.Н.	41
Роббен Д.	17	Телегин Г.Б.	32
Рогачевский В.В.	98	Терских А.В.	76
Рогов С.И.	21	Титова М.А.	69
Родионов И.Л.	12, 83, 86	Тихонов Р.В.	51, 52
Рожкова А.М.	10	Тихонова Т.Л.	48
Ротанова Т.В.	34	Тома Д.	28
Руденко Н.В.	102-104	Троценко Ю.А.	93
Ружейников С.Н.	36	Тузигов А.Б.	77
Рукавцова Е.Б.	92-94	Тюкавин Г.Б.	95
Румш Л.Д.	35		
		Уверский В.Н.	86
Садовников В.Б.	98, 100	Устинова О.А.	52
Сазонова О.В.	67	Уткин Ю.Н.	9, 10, 91
Сапожников А.М.	41		
Сащенко Л.П.	30	Фаворов П.В.	29
Свердлов Е.Д.	22-24	Феденюк А.П.	64
Свищевская Е.В.	43	Федорова О.А.	63
Семисотнов Г.В.	101, 102	Феофанов А.В.	58
Сенюта Н.Б.	22	Феофанов С.А.	97
Сергеева Т.И.	63	Филиппов В.И.	62
Серебрякова М.В.	20	Филиппова М.М.	67
Симонова Т.Н.	15	Фокин А.В.	8

<i>Долгов С.В., Шушкова Т.В., Тюкавин Г.Б.</i> ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ МОРКОВИ (<i>DAUCUS CAROTA</i> L.)	95
<i>Шестибратов К.А., Таран С.А., Лунин В.Г., Шматченко В.В., Пискарева О.А., Долгов С.В.</i> МОЛЕКУЛЯРНАЯ СЕЛЕКЦИЯ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ НА ПОВЫШЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К ФИТОПАТОГЕНАМ И ИЗМЕНЕНИЕ ВКУСА ПЛОДОВ ПУТЕМ ИНТРОДУКЦИИ ГЕНОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ДЕФЕНЗИНА RS-AFP2 И СУПЕРСЛАДКОГО БЕЛКА ТАУМАТИН II	96
<i>Таран С.А., Вережкина К.Н., Губанов С.И., Феофанов С.А.</i> ПОЛУЧЕНИЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ НУКЛЕОЗИДОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРОДУЦЕНТА ТЕРМОФИЛЬНОЙ ПУРИННУКЛЕОЗИДФОСФОРИЛАЗЫ ИЗ <i>BACILLUS</i> <i>STEAROTHERMOPHILUS</i>	97
<i>Попов В.И., Шибаев Н.В., Медведев Н.И., Розачевский В.В., Хуцян С.С., Садовников В.Б.</i> МЕТОДИКА ПОЛУЧЕНИЯ БОЛЬШИХ СЕРИЙ УЛЬТРАТОНКИХ СРЕЗОВ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СТЕРЕОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА СИНАПСОВ Ц.Н.С. И ДЛЯ ТРЕХМЕРНЫХ РЕКОНСТРУКЦИЙ	98
<i>Кравченко И.Н., Янин В.А., Бондарь А.А., Барышникова Л.М., Садовников В.Б., Новоселов В.И.</i> ХИМИЧЕСКИЙ ОЖОГ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ КРЫСЫ КАК МОДЕЛЬ ПРИ ИЗУЧЕНИИ АНТИОКСИДАНТНЫХ СИСТЕМ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ	100
<i>Гороховатский А.Ю., Марченков В.В., Соколов С.Л., Ивашина Т.В., Ксендзенко В.Н., Винокуров Л.М., Семисотнов Г.В., Алахов Ю.Б.</i> МАКСИМАЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПЕРЕНОСА ЭНЕРГИИ ПРИ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ МЕЖДУ КАЛЬЦИЙ-АКТИВИРУЕМЫМ ФОТОБЕЛКОМ И ЗЕЛЕНЫМ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫМ БЕЛКОМ	101
<i>Руденко Н.В., Гороховатский А.Ю., Марченков В.В., Попова Л.И., Захаров М.В., Винокуров Л.М., Семисотнов Г.В., Алахов Ю.Б.</i> НОВЫЕ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ СУБСТРАТЫ ДЛЯ ПРОТЕИНАЗ НА ОСНОВЕ ГИБРИДОВ АКВОРИНА И ЗЕЛЕНОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БЕЛКА	102

*Аржанов М.А., Гороховатский А.Ю., Руденко Н.В., Скосырев В.С.,
Попова Л.И., Захаров М.В., Винокуров Л.М., Алахов Ю.Б.*

РЕЗОНАНСНЫЙ ПЕРЕНОС ЭНЕРГИИ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ (BRET) В ДВОЙНЫХ ГИБРИДНЫХ СИСТЕМАХ СТРЕПТАВИДИН-АКВОРИН: ВССР-GFP	103
--	-----

<i>Скосырев В.С., Гороховатский А.Ю., Руденко Н.В., Заграничный В.Е., Винокуров Л.М., Алахов Ю.Б.</i> ЗЕЛЕНЫЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ БЕЛОК (GFP) КАК ПАРТНЕР ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПОЛИПЕПТИДОВ ЭКСТРАКЦИЕЙ ЭТАНОЛОМ	104
---	-----

Авторский указатель	105
---------------------------	-----

Содержание	110
------------------	-----

Отпечатано на полиграфическом участке ИБХ РАН
Печать офсетная. Печ. л. 14.5. Тираж 350 экз.
Ноябрь 2000 г.