

В ходе выполнения проекта по Соглашению о предоставлении субсидии от 18 августа 2014 года №14.593.21.0001 с Минобрнауки России в рамках федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014 - 2020 годы» на этапе № 2 в период с 01 января 2015 по 30 июня 2015 года выполнялись следующие работы:

2.1 Реализация Программы развития Центра коллективного пользования научным оборудованием Воронежского государственного университета на 2014-2015 годы, в т.ч.:

- закупка современного дорогостоящего научного оборудования стоимостью свыше 1 млн. рублей;
- закупка расходных материалов;
- модернизация, содержание и ремонт научного оборудования ЦКП;
- разработка новых методик выполнения измерений;
- развитие кадрового потенциала ЦКП;
- метрологическое обеспечение деятельности ЦКП;
- повышение доступности приборной базы ЦКП для внешних и внутренних пользователей;
- расширение перечня оказываемых ЦКП услуг;
- мероприятия по развитию внутренней и международной кооперации ЦКП в научной и инновационной сферах.
- 2.2 Проведение мероприятий, направленных на достижение заданных значений показателей результативности предоставления субсидии.
- 2.3 Проведение работ по текущему содержанию оборудования.
- 2.4 Разработка метода получения липосом и способа загрузки липосом лекарственными препаратами.
- 2.5 Исследование прооксидантно-антиоксидантного статуса лимфоцитов человека в динамике развития апоптоза, индуцированного воздействием УФ-света и АФК.
- 2.6 Исследование изменений функциональной активности теломеразы и длины теломерных участков хромосом лимфоцитов человека в условиях воздействия УФ-света и АФК.
- 2.7 Исследование влияния УФ-излучения и активных форм кислорода на процессы выхода ДНК из ядра нейтрофилов в условиях генерации нейтрофильных внеклеточных ловушек.

При этом были получены следующие результаты:

По п. 2.1 Плана-Графика – Реализация Программы развития Центра коллективного пользования научным оборудованием Воронежского государственного университета на 2014-2015 годы, в т.ч.:

- Проведены работы по закупке современного дорогостоящего научного оборудования стоимостью свыше 1 млн. рублей

Результат

Проведены подготовительные работы по приобретению следующего научного оборудования:

- Установка для анализа размеров субмикронных частиц Malvern Zetasizer ZSP;
- Установка препаративного разделения биомакромолекул хроматограф Akta Pure 150L с возможностью проведения разделения органических проб сложного состава.

- Проведены мероприятия по закупке расходных материалов

Проведены подготовительные работы по закупке расходных материалов.

Результат

Подготовлены технические задания на приобретение расходных материалов, проведены переговоры с поставщиками. Заключены договора на поставку расходных материалов.

- Проведены мероприятия по модернизации, содержанию и ремонту научного оборудования ЦКП

Результат

Определен перечень необходимых работ по модернизации, содержанию и ремонту научного оборудования ЦКП.

- Проведены мероприятия по разработке новых методик выполнения измерений;

Результат

Разработаны следующие методики выполнения измерений: Методика определения генотоксичности различных материалов; Методика определения цитотоксичности различных материалов.

Разработанные методики удовлетворяют пунктам 2.2 Задания на выполнение работ.

- Проведены мероприятия по развитию кадрового потенциала ЦКП

Результат

Сотрудники ЦКП читают курсы лекций студентам, руководят практикой студентов и работой аспирантов на следующих факультетах: физический, химический, биолого-почвенный, геологический Воронежского государственного университета; проводят практические занятия со старшеклассниками гимназии им. академика Н.Г. Басова при Воронежском государственном университете.

- Проведены мероприятия по метрологическому обеспечению деятельности ЦКП

Результат

Проведены работы по расширению области аккредитации лаборатории Комплексных исследований, направленные на внесение в список услуг аккредитованной лаборатории новых методик измерений на Рентгено-флуоресцентном спектрометре BrukerS8 Tiger. Двое сотрудников центра Карпов С.И., Синяева Л.А. прослушали курс лекций, приняли участие в практических занятиях и получили свидетельства в соответствии с программой семинара «Практические аспекты организации работ аккредитованных лиц. Порядок подготовки к аккредитации и подтверждению компетентности».

- Проведены мероприятия по повышению доступности приборной базы ЦКП для внешних и внутренних пользователей

Результат

Продолжено оказание услуг коллективного пользования: ООО «Воронежгеология», ООО «Росбиоквант», Департамент по недропользованию по Центральному федеральному округу. Привлечены новые пользователи услуг коллективного пользования, в том числе из перечня малых инновационных предприятий при ВГУ, реализующих проекты при поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере: ООО "Региональный центр ресурсосбережения», ООО «Завод магнизиальных соединений».

- Проведены мероприятия по расширению перечня оказываемых ЦКП услуг

Результат

На сайте ЦКП актуализирована информация о приобретенном новом оборудовании и новых услугах. Изменен вид заявки на проведение исследований.

- Проведены мероприятия по развитию внутренней и международной кооперации ЦКП в научной и инновационной сферах

Результат

На базе Центра проведены семинары совместно со специалистами следующих компаний: ООО «ОПТЭК» на тему «LSM 8 – Новая эра конфокальной микроскопии»; Меттлер Толодо Восток «Электрохимический анализ. Термический анализ».

По п. 2.2 Плана-Графика – проведены мероприятий, направленных на достижение заданных значений показателей результативности предоставления субсидии.

Результат

Проведены работы по приобретению оборудования. Заключены договора на поставку данного оборудования.

Привлечены новые пользователи услуг коллективного пользования.

Опубликовано две научных статьи в реферируемых журналах. Выполнены мероприятия за счет внебюджетных средств. Объем привлеченных внебюджетных средств 1,9 млн.руб.

Разработаны две методики выполнения измерений.

По п. 2.3 Плана-Графика – Проведены работы по текущему содержанию оборудования.

Результат

Проведены мероприятия по закупке оборудования и комплектующих. Приобретена установка для нанесения материалов в вакууме, поставщик ООО «Тескан». Приобретен и установлен детектор сцинтилляционный для S8 Tiger, поставщик ООО «Брукер».

Приобретена оргтехника, поставщик ООО «Перемена». Заключен договор на поставку реактивов и ООО «Вектон-Центр» Заключен договор на поставку химических реактивов и реактивов для молекулярной и клеточной биологии с ООО «Воронежспецнаб». Заключен договор на поставку химических реактивов и реактивов для молекулярной и клеточной биологии с ООО «Евроген Ру». Проведен монтаж вентиляционной системы, ООО «СК ЭТАЛОН».

По п. 2.4 Плана-Графика – Разработка метода получения липосом и способа нагрузки липосом лекарственными препаратами.

Результат

Разработан высокоэффективный способ получения наночастиц (липосом) на основе соевого лецитина. Липосомальные везикулы получали методом дегидратации/регидратации. С последующим облучением ультразвуком.

Размер полученных липосом измеряли с помощью спектрометра динамического светорассеяния Photocor-FC. Данные, полученные с использованием этого метода, показали, что мы имеем дело с моодисперсной системой. В случае использования подобранного нами режима работы ультразвукового дезинтегратора размер получаемых частиц составляет 106,2 нм +/- 4,8 %;

По п. 2.5 Плана-Графика – Исследование прооксидантно- антиоксидантного статуса лимфоцитов человека в динамике развития апоптоза, индуцированного воздействием УФ-света и АФК.

Результат

Показано, что через 1-3 ч после УФ-модификации лимфоцитов выявлены существенные изменения функциональной активности каталазы и глутатионредуктазы, вносящие вклад в процесс модуляции функционального состояния антиоксидантной системы лимфоцитов в условиях инициации их УФ-индуцированного апоптоза.

Активация каталазы через 1, 2, 3 ч и глутатионредуктазы — через 2ч после УФ-облучения лимфоцитов указывает на усиление интенсивности функционирования

высокомолекулярных антиоксидантов лимфоцитов в условиях нарастания уровня активных форм кислорода, вызванного УФ-облучением клеток.

Выявлено, что использование аутологичной плазмы крови в ходе инкубации как нативных, так и фотомодифицированных клеток, позволяет снизить количество и апоптотических, и некротических клеток (рис. 9, 10). Образующиеся в результате УФ-облучения АФК могут изменять микроокружение клеток и таким образом вовлекать в реакцию на световой стимул целые сообщества клеток и биомолекул. Плазма крови, обладая мощной антиокислительной способностью, снижает уровень ПФОЛ, тем самым предотвращая гибель клеток.

По п. 2.6 Плана-Графика – Исследование изменений функциональной активности теломеразы и длины теломерных участков хромосом лимфоцитов человека в условиях воздействия УФ-света и АФК.

Результат

С целью выявления особенностей функционирования важнейших ферментов лимфоцитов периферической крови человека в динамике развития УФ-индуцированного апоптоза исследованы изменения уровня каталитической активности антиоксидантных ферментов — каталазы и глутатионредуктазы через 1, 2, 3 ч после УФ-облучения (240-390 нм) клеток в дозе 1510 Дж/м², а также теломеразы — после воздействия УФ-света в дозах 151, 1510 и 3020 Дж/м² на лимфоциты.

Установлено, что облучение лимфоцитов в дозе 151 Дж/м² приводит к статистически достоверному повышению уровня функциональной активности теломеразы инкубированных лимфоцитов по отношению к таковому для нативных клеток. Шестичасовая инкубация облученных в дозе 151 Дж/м² лимфоцитов сопровождается снижением величины активности исследуемого фермента по сравнению со значением изучаемого параметра для неинкубированных фотомодифицированных клеток. При этом величина тестируемого показателя не отличается от уровня активности теломеразы интактных клеток. УФ-модификация лимфоцитов в дозе 1510 Дж/м² приводит к снижению уровня активности теломеразы после облучения и шестичасовой инкубации лимфоцитарных клеток, что в конечном итоге может приводить к активации апоптогенных факторов и реализации программы гибели клетки. Воздействие УФ-света в дозе 3020 Дж/м² на иммунциты не вызывает статистически достоверных изменений уровня активности теломеразы по отношению к таковому для интактных клеток. Последующая инкубация лимфоцитов индуцирует снижение величины изучаемого параметра как по отношению к нативным, так и облученным клеткам.

Полученные результаты углубляют представления о процессах модуляции функциональных свойств ключевых ферментов метаболизма в динамике УФ-индуцированного апоптоза лимфоцитов человека и путях его реализации.

По п. 2.7 Плана-Графика – Исследование влияния УФ – излучения и активных форм кислорода на процессы выхода ДНК из ядра нейтрофилов в условиях генерации нейтрофильных внеклеточных ловушек.

Результат

В настоящее время проводятся исследования по воздействию УФ-света на нейтрофильные внеклеточные ловушки. Предыдущими работами было показано, что УФ-свет снижает их секрецию.

При секреции нейтрофильных внеклеточных ловушек происходит деиминация гистонов под действием фермента пептидиларгининдеиминазы-4. Гистоны контактируют с фосфодиэфирным остовом молекулы ДНК. Контакты реализуются через каждые 10 пар оснований, когда малая бороздка ДНК оказывается развернутой внутрь.

Пептидиларгининдеиминаза-4 производит замену остатков аргинина на цитруллин, что приводит к потере гистонами положительного заряда и нарушению электростатического взаимодействия между ДНК и гистонами. Поскольку гистоны обеспечивают конденсацию хроматина, их деиминация приводит деконденсации молекул ДНК, разрыву клеточной мембраны и выходу ДНК в межклеточное пространство.

Методом иммуноферментного анализа было показано снижение секреции гистонов изучаемыми иммунными клетками после фотомодификации. Следовательно, УФ-свет способствует уменьшению количества гистонов, выходящих из нейтрофилов при стимуляции к образованию внеклеточных ловушек.

По результатам работ были сформированы отчетные материалы и направлены на рассмотрение комиссии Минобрнауки России