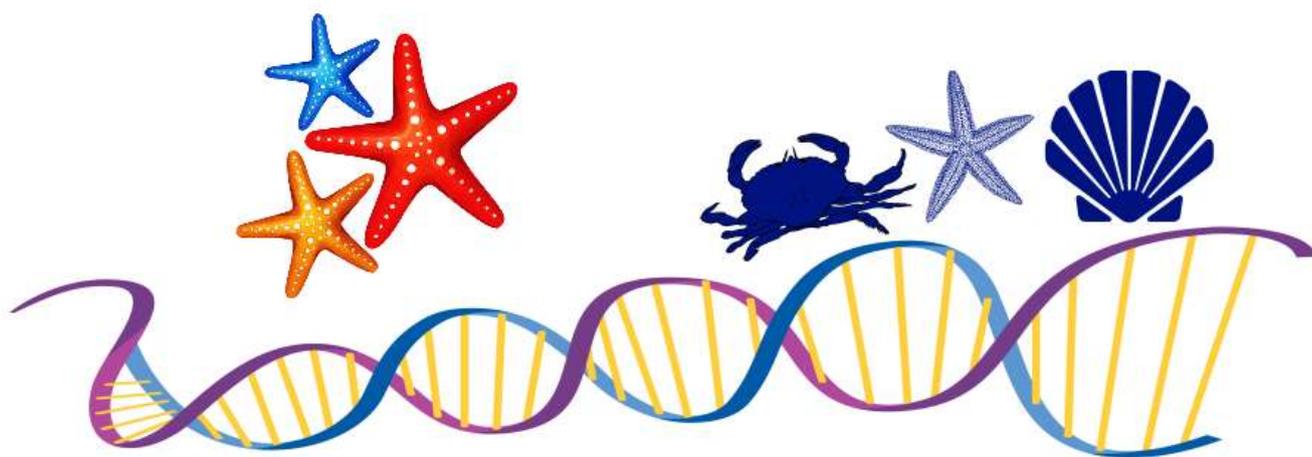


Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова
Дальневосточного отделения Российской академии наук
(ТИБОХ ДВО РАН)

ХІХ ВСЕРОССИЙСКАЯ МОЛОДЁЖНАЯ
ШКОЛА-КОНФЕРЕНЦИЯ ПО АКТУАЛЬНЫМ ПРОБЛЕМАМ
ХИМИИ И БИОЛОГИИ

МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ



12-14 сентября 2022 г.
Владивосток

УДК 577

ББК 28.07

XIX Всероссийская молодежная школа-конференция по актуальным проблемам химии и биологии, ТИБОХ ДВО РАН. Материалы конференции / Владивосток, 12-14 сентября 2022. – 54 с. – Владивосток.

В сборнике представлены тезисы пленарных докладов ведущих ученых, а также устных и стендовых докладов студентов, аспирантов и молодых специалистов, участников XIX Всероссийской молодежной школы-конференции. В рефератах отражены результаты научных работ по приоритетным направлениям химии, биологии, прикладной биологии и медицины. Для студентов, аспирантов, научных сотрудников и специалистов в области химии и биологии.

Организационный комитет выражает благодарность за оказанную поддержку Федеральному государственному бюджетному учреждению науки Тихоокеанскому институту биоорганической химии им. Г. Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук.

Мероприятие проведено при финансовой поддержке ООО «Компания Хеликон».

DOI: 10.47471/18_2022_09_12_14_0

ISBN 978-5-91849-167-6

Председатель Оргкомитета

Дмитренко Павел Сергеевич, к.х.н., директор ТИБОХ ДВО РАН

Организационный комитет:

Белик Алексей Анатольевич, зам. председателя, м.н.с., председатель Совета молодых ученых ТИБОХ ДВО РАН

Кусайкин Михаил Игоревич, зам. директора, д.б.н., доцент

Гладких Ирина Николаевна, к.х.н., с.н.с.

Володько Александра Викторовна, н.с., к.х.н.

Фильштейн Алина Петровна, м.н.с., к.х.н.

Суриц Валерий Валерьевич, м.н.с.

Борисова Ксения Леонидовна, н.с., к.х.н.

Быстрицкая Евгения Петровна, м.н.с.

Председатель программного комитета:

Стоник Валентин Аронович, академик РАН, научный руководитель ТИБОХ ДВО РАН

Программный комитет:

Михайлов Валерий Викторович, чл.-корр. РАН, д.б.н., зав. лабораторией микробиологии

Аминин Дмитрий Львович, чл.-корр. РАН, д.б.н., зав. лабораторией биоиспытаний и механизма действия биологически активных веществ

Черников Олег Викторович к.б.н., зам. директора по научной работе

Ермакова Светлана Павловна, д.х.н., зав. лабораторией химии ферментов

Давыдова Виктория Николаевна, к.х.н., с.н.с., зав. лабораторией молекулярных основ антибактериального иммунитета

Иванчина Наталья Владимировна, к.х.н., зав. лабораторией химии морских природных соединений

Федореев Сергей Александрович, д.х.н., зав. лабораторией химии природных хиноидных соединений

Куриленко Валерия Валерьевна, к.б.н., ученый секретарь Института

СОДЕРЖАНИЕ

Пленарные доклады	
Д.Л. Аминин Болезнь Паркинсона: причины возникновения, способы лечения и разработка новых эффективных лекарственных средств	8
А.А. Гилеп, Т.А. Варакса, Е.Ю. Карнуть, М.С. Кисель, В.И. Борщевский, Н.В. Струшкевич Биоинформационный, биохимический и структурный анализ в установлении функции орфаных белков	9
А.С. Иванов, Л.А. Калужский, Е.О. Яблоков, Ю.В. Мезенцев, О.В. Гнеденко, А.И. Арчаков Технология поверхностного плазмонного резонанса (SPR) в исследованиях COVID-19	10
Д.А. Стеценко, Е.А. Буракова, С.Н. Бизяев, К.В. Клабенкова, А.Ш. Держалова, Д.Э. Патрушев, А.А. Фокина Новые веяния в нейтронозахватной терапии рака	11
И.Ю. Торопыгин Метод изотопного обмена для количественной масс-спектрометрии MALDI-TOF	12
С.А. Федорев Новые лекарственные средства из дальневосточного растения маакии амурской	13
Устные доклады	
Г.В. Боркунов, Е.В. Лещенко Новые производные β -резорциновой кислоты из морского мицелиального гриба <i>Penicillium antarcticum</i>	15
Е.А. Васильева, Н.П. Мищенко, С.А. Федорев Идентификация и количественное определение спинохромов в панцирях, целомической жидкости и яйцеклетках тихоокеанских морских ежей с использованием ВЭЖХ-МС	16
П.В. Гребенкин, Ю.Е. Сабуцкий, Г.Н. Лихацкая Изучение <i>in silico</i> возможности активации АМР-активируемой протеинкиназы синтетическими 1,4-нафтохинонами	17
А.А. Егорова, С.В. Герасимова, И.А. Сабоиев, Д. Домрачев, И. Коэппель, Ш. Хикель, К. Хертиг, С. Чамас, Й. Кумлен, Е. Рогозина, Н. Чалая, Е.А. Салина, А.В. Кочетов Получение новых генотипов картофеля с устойчивостью к холодовому осахариванию	18
А.Е. Закирова, Р.С. Попов, В.В. Маханьков, Б.П. Машнев, В.Ф. Ануфриев Изучение структуры метаболитов эхинохрома с использованием дейтериевой метки в почечных экскретах мышей	19
Т.Е. Зыкова, А.А. Егорова, К.В. Стрыгина, О.Ю. Шоева, М.А. Генаев, Е.Г. Комышев, И.Д. Бусов, К. Хертиг, С.В. Герасимова, И. Коэппель, Ш. Хикель, А.М. Короткова, А.В. Вихорев, Й. Кумлен, Е.К. Хлесткина Направленная модификация гена <i>HvMyc2</i> , связанного с голубой окраской зерна ячменя	20
Л.А. Калужский, П.В. Еришов, Е.О. Яблоков, Ю.В. Мезенцев, О.В. Гнеденко, Т.В. Шкель, А.А. Гилеп, А.С. Иванов Репозиционирование лекарств для поиска потенциальных неазольных ингибиторов стерол-14- α -деметилазы (CYP51) грибов рода <i>Candida</i>	21
М.А. Константинов, А.С. Афошин, И.В. Кудрякова, Н.В. Васильева, И.Ю. Торопыгин Свойства и специфичность бета-литической металлоэндопептидазы <i>Lysobacter capsici</i>	22
А.С. Кузнецов, Р.Г. Ефремов Роль белок-липидных контактов в димеризации трансмембранных доменов рецепторных тирозинкиназ	23
Г.А. Курбанова, О.Ю. Слабко Реакция хинониминнов ряда пиридобензимидазола с N-ацетилцистеином	24

XIX Всероссийская молодежная школа-конференция по актуальным проблемам химии и биологии

Д.Д. Куфтина, А.С. Сильченко Новые тритерпеновые гликозиды из голотурии <i>Psolus chitonoides</i> (сем. Psolidae, отряд Dendrochirotida)	25
М.А. Муханова, И.В. Тоцкий, О. Ю. Шоева Исследование функциональной роли гена Ant25, контролирующего синтез проантоцианидинов в зерне ячменя	26
Л.Е. Нестеренко, Е.А. Юрченко Влияние условий культивирования на продукцию дезоксиизоаустамидных алкалоидов морским грибом <i>Penicillium dimorphosporum</i> КММ 4689	27
И.С. Панина, А.Х. Тальдаев, А.О. Чугунов, Р.Г. Ефремов Механизм межмолекулярного распознавания мишени лантибиотиками типа А: низином, эпидермином и галлидермином	28
В.С. Пλεκанчук, О.И. Прокудина, М.А. Рязанова Экспрессия генов глутаматных и дофаминовых D1- и D2-рецепторов в гиппокампе и престаимпульное торможение у крыс с генетической кататонией	29
Э.Ю. Сон, А.В. Володько Полисахаридные плёнки на основе каррагинана и хитозана, как системы для доставки лекарственных средств	30
С.С. Старновская, Р.А. Шкрабов, Д.В. Тарбеева, Н.Д. Похило, И.Ю. Бакунина, С.П. Ермакова, С.А. Федореев Новые флавоноиды из <i>Lespedeza hedysaroides</i> - ингибиторы α -N-ацетилгалактозаминидазы из культуры раковых клеток HuTu 80	31
Д.В. Тарбеева, С.А. Федореев, Е.А. Пислягин, Д.Л. Аминин, Е.С. Менчинская, Н.В. Крылова, О.В. Иунихина, М.Ю. Щелканов Нейропротективные и противовирусные свойства полифенольных соединений из <i>Lepedeza bicolor</i>	32
Т.Ю. Тельнова, М.М. Моргунова, С.С. Шашкина, А.А. Власова, Д.В. Аксенов-Грибанов Загрязнение зообентоса озера Байкал активными фармацевтическими субстанциями	33
О.О. Хмель, Е.А. Юрченко, А.Н. Юрченко Поликетидные метаболиты морского гриба <i>Lopadostoma pouzarii</i> 168CLC-57.3	34
В.Н. Шелковникова, М.Е. Дмитриева, Е.В. Переляева, А.Ю. Бельшенко, Д.В. Аксенов-Грибанов Анализ антимикробной активности и синтеза биологически активных соединений термофильного штамма <i>Streptomyces</i>	35
Р.А. Шкрабов, Р.В. Усольцева, Н.М. Шевченко, А.Б. Расин, М.И. Кусайкин, А.С. Сильченко, С.П. Ермакова Фукоидан из бурой водоросли <i>Saccharina bongardiana</i> ; получение и характеристика наночастиц на его основе	36
Стеновые доклады	
Н.А. Шевелев, И.Л. Артемьева, Р.С. Попов Оценка возможности достоверной идентификации морских природных соединений при помощи различных подходов в масс-спектрометрическом анализе	38
А.А. Шкляр, Н.Г. Колосова, О.С. Кожевникова Исследование динамики экспрессии микроРНК в сетчатке крыс при старении и развитии ретинопатии, аналогичной возрастной макулярной дегенерации	39
Заочные доклады	
К.А. Айрияци, Е.В. Межлумян, А.С. Мutowина, М.М. Колесникова, Ю.А. Рябушкина, А.А. Сапронова, В.В. Решетников Влияние введения бактериального и вирусного миметиков на развитие, социальное и индивидуальное поведение мышей линии BTBR	41

Н.А. Имидоева, Е.В. Перелева, М.Е. Дмитриева, В.Н. Шелковникова, А.Ю. Бельшенко, Д.В. Аксенов-Грибанов Оценка биоразнообразия и анализ антимикробной активности психрофильных бактерий-деструкторов в озере Байкал	42
К.В. Клабенкова, Е.А. Буракова, А.А. Фокина, Д.А. Стеценко Новые фторсодержащие цвиттер-ионные олигонуклеотиды	43
Е.В. Межлумян, К.А. Айриянц, А.С. Мutowина, М.М. Колесникова, Ю.А. Рябушкина, А.А. Сапронова, Ю.Н. Хантакова, В.В. Решетников Влияние индукции раннего постнатального воспаления на показатели крови самцов мышей линий C57Bl/6 и BTBR	44
А.С. Мutowина, К.А. Айриянц, Е.В. Межлумян, М.М. Колесникова, А.А. Сапронова, Ю.Н. Хантакова, Ю.А. Рябушкина, В.В. Решетников Влияние острого введения LPS и Poly I:C на экспрессию провоспалительных генов в мозге самцов мышей линии BTBR и C57Bl/6	45
А.Г. Павлов, С.П. Ермакова, А.А. Белик, Н.П. Тарабукина, М.П. Неустроев Качественные и количественные показатели изолятов бактерий <i>Bacillus subtilis</i> выделенных из микробиоты диких животных на амилопектин	46
Д.Э. Патрушев, С.Н. Бизяев, Е.А. Буракова, Д.А. Стеценко Новые цвиттер-ионные олигонуклеотиды	47
Ю.К. Пентехина, Л.А. Балабанова, О.И. Недашковская, А.Б. Подволоцкая, Л.А. Текутьева Хитин-деградирующие ферменты <i>Microbulbifer thermotolerans</i> , выделенной из морской среды	48
П.Д. Тимкин, М.В. Михайленко, Э.А. Тимофеев, Е.А. Бородин Создание «молекулярной пломбы» для ингибирования BRAF V600E <i>in silico</i>	49
А.П. Фильштейн, Д.В. Шеховцева, И.В. Чикаловец Взаимодействия лектинов из асцидии <i>Didemnum ternatanum</i> с оппортунистическими грибами	50
А.П. Фильштейн, В.И. Молчанова, О.В. Черников, И.В. Чикаловец Структурно-функциональные особенности и биологическая активность лектина из мидии <i>Mytilus trossulus</i>	51
Информация об ООО «Компания Хеликон»	52
Авторский указатель	53

Пленарные доклады

Болезнь Паркинсона: причины возникновения, способы лечения и разработка новых эффективных лекарственных средств

Д.Л. Аминин

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: daminin@piboc.dvo.ru

Болезнь Паркинсона (БП) - прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, которым страдают от 1 до 2% людей старше 60 лет. Болезнь поражает людей самых разных социальных слоев и приводит к нарушению трудоспособности и глубокой инвалидизации больного вплоть до летального исхода. При БП наблюдается гибель нейронов в черной субстанции среднего мозга, сопровождающаяся существенным снижением уровня дофамина, изменением структуры α -синуклеина, его накоплением в нейронах и агрегации с образованием телец Леви, дисфункцией митохондрий и убиквитин-протеасомного пути. В настоящее время существует несколько основных групп противопаркинсонических средств: препараты леводопы, агонисты дофаминовых рецепторов, ингибиторы катехол-орто-метилтрансферазы, ингибиторы моноаминоксидазы Б, амантадины и центральные холинолитики. Однако по-настоящему эффективных препаратов для профилактики и лечения БП до сих пор не существует. В докладе обсуждаются различные подходы для поиска и разработки новых методов в терапии БП. Показан потенциал синтетических 1,4-нафтохинонов, полученных в ТИБОХ ДВО РАН, для создания новых эффективных лекарственных средств борьбы с болезнью Паркинсона.

Биоинформационный, биохимический и структурный анализ в установлении функции орфанных белков

А.А.Гилеп^{1,2}, Т.А.Варакса¹, Е.Ю.Карпуть¹, М.С.Кисель¹, В.И.Борщевский³,
Н.В.Струшкевич⁴

¹Институт биоорганической химии НАН Беларуси

²ФГБНУ НИИ биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича

³Московский физико-технический институт

⁴Сколковский институт науки и технологий

Электронная почта: andreigilep@gmail.com

Большинство белков, представленных в живых организмах, имеют гипотетическую или неизвестную функцию и, таким образом, относятся к группе орфанных белков. Одной из наиболее актуальных задач современной биохимии и молекулярной биологии является определение структуры и функции орфанных белков человека и патогенных организмов, а также определение функций отдельных элементов биосинтетических кластеров биотехнологически значимых микроорганизмов. Определение функций белков является принципиальным для выявления новых фармацевтических мишеней, понимания молекулярных основ патогенеза ряда заболеваний, а также белковой инженерии биокатализаторов.

В докладе будет представлен комплексный подход по определению функции орфанных ферментов. В качестве примера будет представлена информация по определению функции стероид модифицирующих ферментов *M. tuberculosis* с использованием комплексного подхода: биоинформационного анализа (анализ молекулярной эволюции стероидгидроксилаз и гидроксилаз метилразветвленных липидов микобактерий и анализ коэкспрессии генов *M.tuberculosis*), биохимического анализа (анализ связывания лигандов с активным центром микобактериальных стероидгидроксилаз и анализ каталитической активности стероидмодифицирующих ферментов *M. tuberculosis*) и структурного анализа СУР124 *M.tuberculosis*. Проведенные исследование позволили предположить участие стероидгидроксилаз на этапах заражения макрофагов микобактериями, а также позволили выявить ряд коэкспрессирующихся орфанных ферментов микобактерий, гомологи которых потенциально могут участвовать в метаболизме молекул стероидной природы. Биохимический анализ показал участие стероидгидроксилаз и стероидегидрогеназ микобактерий в инактивации иммуноактивных молекул и метаболизме противотуберкулезных средств [1,2]. В совокупности проведенные исследования позволили предположить существование дополнительного механизма модуляции иммунного ответа человека патогенными микобактериями.

Ссылки:

1. Varaksa T. et al. // J. Mol. Biol. 2021. V. 433. P. 166763
2. Bukhdruker S. et al. // Int. J. Mol. Sci. 2020. V.21. P. 7683.

Технология поверхностного плазмонного резонанса (SPR) в исследованиях COVID-19

А.С. Иванов, Л.А. Калужский, Е.О. Яблоков, Ю.В. Мезенцев, О.В. Гнеденко, А.И. Арчаков
 ФГБНУ НИИ биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича
 Электронная почта: alexei.ivanov@ibmc.msk.ru

Пандемия COVID-19, вызванная коронавирусом SARS-CoV-2, потребовала мобилизацию усилий мирового научного сообщества для выполнения экстренных работ по многим направлениям научных и клинических исследований данной инфекции. Одним из основных факторов, определяющих жизненный цикл вируса, являются многочисленные межмолекулярные взаимодействия между белками вируса и человека. Поэтому для изучения белок-белковых взаимодействий (ББВ) большинство исследователей остановили свой выбор на наиболее универсальной и эффективной технологии поверхностного плазмонного резонанса (SPR).

Оптические биосенсоры, работающие на эффекте SPR, позволяют осуществлять высокоточную регистрацию взаимодействий практически любых молекул в реальном масштабе времени и без использования каких-либо вспомогательных меток или сопряженных процессов. Математический анализ серий полученных сенсограмм позволяет определить основные характеристики межмолекулярных взаимодействий: константу диссоциации комплекса K_d , константы скоростей образования и распада комплексов (k_{on} и k_{off}), а также термодинамические характеристики - изменения свободной энергии Гиббса (ΔG), энтальпии (ΔH) и энтропии (ΔS).

Анализ научной литературы в базе данных PubMed (pubmed.ncbi.nlm.nih.gov) по сочетанию ключевых слов COVID и SPR в полях поиска Title/Abstract показывает экспоненциальный рост числа публикаций по исследованию COVID-19 с применением SPR технологии с самого начала пандемии в 2020 году. Данный факт говорит о востребованности и эффективности применения технологии SPR для решения различных фундаментальных и прикладных задач в ряде научных направлений в исследовании COVID-19 (рис.1).

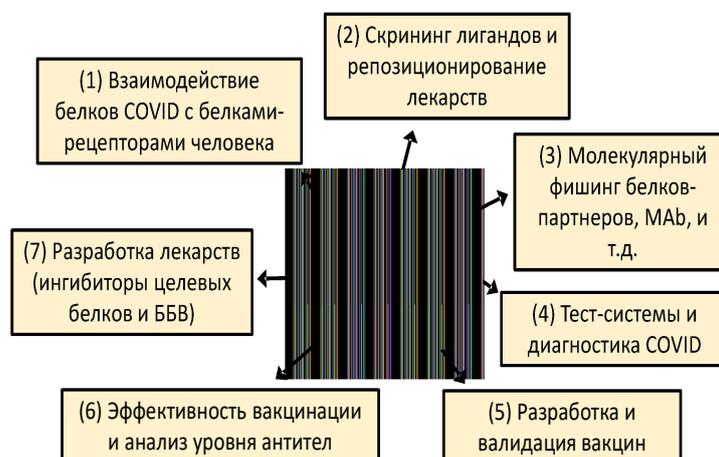


Рисунок 1. Направления научных и прикладных исследований по COVID-19, в которых была использована SPR технология.

В лекции дается краткий обзор следующих основных моментов: (1) основы SPR технологии и принципы работы SPR биосенсоров; (2) области применения SPR биосенсоров в фундаментальных и прикладных биомедицинских исследованиях; (3) структурные особенности строения вируса SARS-CoV-2; (4) молекулярные механизмы взаимодействия S-белка вируса с белками-рецепторами человека; (5) примеры научных и клинических исследований по COVID-19, в которых была использована SPR технология; (6) роль гликозилирования белков вируса и человека в их взаимодействии.

Новые веяния в нейтронозахватной терапии рака

Д.А. Стеценко^{1,2}, Е.А. Буракова^{1,2}, С.Н. Бизяев^{1,3}, К.В. Клабенкова^{1,2}, А.Ш. Держалова^{1,2},
Д.Э. Патрушев^{1,2}, А.А. Фокина^{1,2}

¹ Новосибирский государственный университет

² Институт цитологии и генетики СО РАН

³ Институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН

Электронная почта: d.stetsenko@nsu.ru

Получение малотоксичных соединений гадолиния и бора для эффективной избирательной доставки в раковые клетки по сравнению со здоровыми и преимущественного накопления в опухоли – это ключевая задача комбинированной гадолиний-бор-нейтронозахватной терапии (ГБНЗТ), которая должна объединить преимущества как уже применяемой в настоящее время бор-нейтронозахватной терапии (БНЗТ), так и перспективной гадолиний-нейтронозахватной терапии (ГНЗТ). Успешное решение этой задачи откроет новые перспективы лечения наиболее агрессивных злокачественных новообразований. На сегодня для БНЗТ одобрены два борсодержащих препарата – борфенилаланин и боркапнат натрия. Поскольку природное соотношение изотопов бора включает только 20% активного изотопа ¹⁰B, для борфенилаланина, молекула которого содержит только один атом бора, основной проблемой является создание достаточно высокой концентрации нужного изотопа в раковой клетке. В связи с этим боркапнат натрия, содержащий 12 атомов бора в виде кластера, оценивается как более перспективный агент для БНЗТ. Следующим шагом к повышению концентрации нужного изотопа внутри раковой клетки представляется: (а) применение наночастиц с наиболее высоким содержанием бора; (б) переход к использованию соединений гадолиния, у которого содержание активных изотопов ¹⁵⁷Gd и ¹⁵⁵Gd составляет ~30%, а сечение захвата нейтрона в десятки раз выше, чем у ¹⁰B; или (в) проведение комбинированной НЗТ на основе гадолиния и бора (ГБНЗТ).

Одним из перспективных подходов к НЗТ представляется таргетная терапия с использованием нанокомпозитов на основе гадолиния и бора, способных адресно доставляться в раковые клетки. Особенностью и одним из ключевых элементов данного подхода выступает применение таргетных агентов, включающих, например, аптамеры или пептиды, способные к селективному связыванию со специфическими онкомаркерами на поверхности раковых клеток. Показано, что нанокомпозиты, оснащенные таргетными агентами, способны преимущественно по сравнению со здоровыми тканями накапливаться не только в первичной опухоли, но и в метастазах, а также изолированных раковых стволовых клетках, с последующей интернализацией и транслокацией в ядра клеток. Последующее облучение опухоли потоком практически безвредных для здоровых клеток эпителиальных нейтронов, излучаемых разработанным в Институте ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН уникальным ускорителем частиц, приведет к накоплению необратимых повреждений геномной ДНК раковых клеток и индукции их апоптоза. Отличительной чертой данного подхода может выступить потенциальная возможность элиминации отдельных раковых стволовых клеток, которые во многих случаях приводят к рецидиву после хирургического удаления первичной опухоли. Для получения нанокомпозитов рассматриваются экстра-малые наночастицы нитрида бора BN, которые в силу присущей им яркой флуоресценции по типу квантовых точек могут быть использованы для визуализации как первичной опухоли, так и метастазов и даже отдельных опухолевых клеток. Присутствие наночастиц или хелатов гадолиния, обладающих парамагнитными свойствами, позволит применить магниторезонансную томографию (МРТ) для отслеживания биораспределения нанокомпозитов в тканях и органах лабораторных животных и, в дальнейшем, пациентов, в особенности, накопления гадолиния в опухоли и путей выведения нанокомплексов из организма.

Работа поддержана Министерством науки и высшего образования РФ (проект Новосибирского государственного университета FSUS-2020-0035).

Метод изотопного обмена для количественной масс-спектрометрии MALDI-TOF

И. Ю. Торопыгин

ФГБНУ НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича

Электронная почта: toropygin@rambler.ru

В настоящее время масс-спектрометрия стала одним из основных инструментальных методов идентификации биомолекул и биополимеров. Однако когда требуются определение количеств или концентраций исследуемых веществ, либо прибегают к весьма приблизительным полуэмпирическим методам, либо, для достаточно точных измерений, используют специальные подходы включающие внедрение стабильных изотопов. Последние, как правило, предполагают использование дорогостоящих реагентов и сложную подготовку образцов к анализу.

Способы введения стабильных изотопов можно разделить на метаболические - внедрение меток проводят при культивировании на средах, обогащенных тяжелыми изотопами, химическую модификацию – анализируемое вещество и образец сравнения модифицируются идентичными, но различными по изотопному составу группами, и изотопный обмен – спонтанное выравнивание изотопного состава между разными компонентами системы.

Например, такой процесс достаточно быстро протекает между кислородом карбоксильных групп и воды, и кроме того катализируется протеазами. Следовательно, изотопный обмен, а также более сложные, например, кинетические эксперименты, можно проводить в нативных условиях и с естественными субстратами.

В силу равновесной природы изотопного обмена, очевидно, возможно разбавление метки при изменении состава растворителя. Поэтому при работе с такими стандартами наилучшим методом масс-спектрометрического анализа оказывается MALDI: анализируемое вещество смешивается и сокристаллизовывается с матрицей и остается в твердом состоянии до момента измерения, что позволяет избежать разбавления метки.

На примерах работ, выполненных в ЦКП ИБМХ им В.Н. Ореховича показаны варианты применения количественной масс-спектрометрии в прикладных и фундаментальных исследованиях.

Новые лекарственные средства из дальневосточного растения маакии амурской

С.А. Федорев

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: fedoreev-s@mail.ru

Среди представителей дальневосточных растений полифенолы маакии амурской (*Maackia amurensis* Rupr. et Maxim.) обладали наиболее выраженными антиоксидантными свойствами и низкой токсичностью, что побудило исследовать их в качестве гепатопротекторов при токсических поражениях печени. На основе комплекса полифенолов из древесины этого растения, был создан препарат Максар® в лекарственной форме таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 60 мг, зарегистрированный в России в качестве гепатопротективного средства (РУ РN003294/01 2011 г). Основными компонентами максара являются одиннадцать изофлавонов, птерокарпаны, мономерные и димерные стильбены. В его состав также входят изофлаваноны, изофлаваны и флаваноны. Максар является эффективным желчегонным средством, улучшающим экскреторную функцию печени, при курсовом применении у больных хроническим гепатитом вирусной и алкогольной этиологии с различной активностью процесса в печени проявляет выраженные гепатопротективные свойства в большей степени, чем препарат карсил. Побочные эффекты и противопоказания к применению не выявлены. Его применение в экспериментах на животных и в клинической практике способствует коррекции нарушений липидного спектра крови и жировой дистрофии печени. Максар проявляет антиоксидантное действие и препятствует развитию алиментарной гиперлипотеинемии у животных, снижает интенсивность образования в печени и крови продуктов перекисного окисления липидов и регулирует систему антиоксидантной защиты организма. Препарат обладает антиагрегантным и противовоспалительным действием, эффективен при лечении вирусных гепатитов. Терапевтический потенциал препарата максар, может быть обусловлен его способностью конкурировать с эстрогеном за связывание с его рецепторами. Мы показали, что корни в отличие от древесины растения содержат гликозидные формы изофлавонов и птерокарпанов, обладающие выраженными антиоксидантными и гепатопротективными свойствами. При CCl₄-гепатите этот комплекс изофлавоноидов нормализует показатели липидного обмена печени, способствует снижению активности маркерных ферментов цитолиза и удельной массы печени, обеспечивает сохранение уровня глюкозы в крови и окисленных никотинамидных коферментов в печени животных. Действие препарата, оказалось более эффективным в восстановлении реакций углеводного и липидного обмена печени, чем эталонных гепатопротекторов легалона и максара. В эксперименте препарат из корней *M. amurensis* кроме гепатопротекторных свойств показывают выраженные антикоагулянтные эффекты. Основной компонент корней *M. amurensis* гентиобиозид формонетина (ГБФ) при 10-дневном энтеральном введении крысам в дозе 25 мг/кг обладал выраженным антитромбоцитарным и гипокоагуляционным эффектами. Определены основные этапы и продукты метаболизма ГБФ у крыс, влияющие на его биодоступность в условиях энтерального применения. Установлено, что биологическая активность изученного препарата ГБФ из корней *M. amurensis* обусловлена его биотрансформацией в формонетин, дайдеин и другие продукты метаболизма, образующиеся под воздействием кишечной микробиоты животных. Эти результаты имеют важное практическое значение, поскольку открывают перспективу создания нового перорального лекарственного средства, способного уменьшить вероятность возникновения тромбозов при различных сердечно-сосудистых заболеваниях. Кроме гликозидов изофлавоноидов из корней *M. amurensis* были выделены пять пренилированных флаванонов обладающих цитотоксической активностью против двух линий клеток рака человека HeLa, SK-MEL-5.

Устные доклады

Новые производные β -резорциновой кислоты из морского мицелиального гриба *Penicillium antarcticum*

Г.В. Боркунов^{1,2}, Е.В. Лещенко^{1,2}

¹ Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

² Дальневосточный федеральный университет

Электронная почта: gborkunov@gmail.com

Морские микроскопические грибы являются перспективным источником соединений с уникальной химической структурой и биологическими свойствами [1-2]. В поисках новых вторичных метаболитов мицелиальных грибов был исследован штамм *Penicillium antarcticum* КММ 4685, выделенный с поверхности бурой водоросли *Sargassum miyabei* (Японское море). Из этилацетатного экстракта гриба *P. antarcticum* при помощи комбинации хроматографических методов, включая ВЭЖХ, выделены два новых производных β -резорциловой кислоты - резорцилоат А (**1**) и 8-дегидрорезорцилоат А (**2**) (Рисунок 1). Брутто-формулы и химические структуры соединений установлены на основании анализа спектров ¹H и ¹³C ЯМР (при помощи экспериментов HSQC, HMBC, COSY), а также анализа данных HRESIMS.

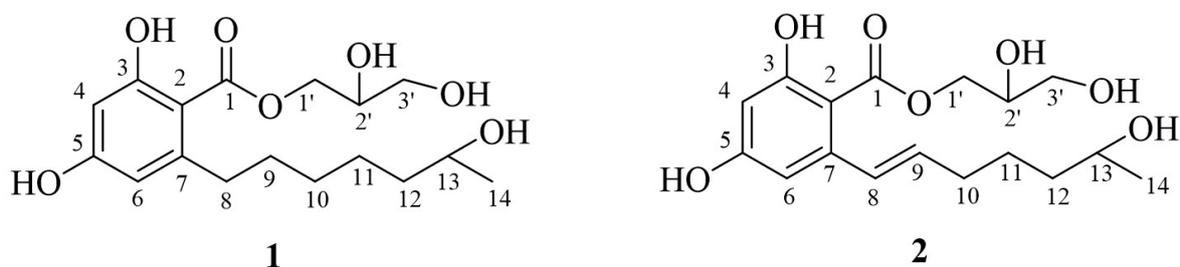


Рисунок 1. Метаболиты, выделенные из *P. antarcticum*

Для соединений **1–2** исследована цитотоксическая активность на пяти клеточных линиях рака предстательной железы человека (Таблица 1). Показано, что эти соединения проявляют умеренную цитотоксическую активность в клетках LNCaP, DU145 и 22Rv1, а также ингибируют активность белка p-gp, который отвечает за выведение лекарственных препаратов из раковой клетки.

Клеточные линии	Соединения, IC ₅₀ [μM]	
	1	2
PC-3	>100	>100
LNCaP	31±2	44.1±3.8
DU145	40.4±2.7	50.4±3.8
22Rv1	41.9±2.1	51.3±2.8
VCaP	>100	>100

Таблица 1. Цитотоксическая активность соединений **1–2**

Ссылки:

- Blunt J.W. et al. // Nat. Prod. Rep. 2014. V. 31. P. 160-258.
- Rateb M.E., Ebel R. // Nat. Prod. Rep. 2011. V. 28. P. 290-344.

Идентификация и количественное определение спинохромов в панцирях, целомической жидкости и яйцеклетках тихоокеанских морских ежей с использованием ВЭЖХ-МС

Е.А. Васильева, Н.П. Мищенко, С.А. Федореев

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: vasilieva_el_an@mail.ru

Красные пигментные гранулы, более века назад обнаруженные МакМунном в перивисцеральной жидкости морского ежа *Echinus esculentus*, вдохновили химиков и биологов по всему миру на исследования состава, структуры, функции и биологической активности содержащихся в них хиноидных пигментов, и до сих пор привлекают их внимание [1]. На сегодняшний день известно, что пигментные гранулы в основном сосредоточены в эпидермисе, покрывающем панцирь и иголки морского ежа, и их пигментный состав характерен для каждого вида [2]. Пигментные гранулы также обнаружены в красных сферических клетках целомической жидкости морских ежей и в желеобразной оболочке, покрывающей яйцеклетки многих, но не всех видов морских ежей [3].

Спинохромы, хиноидные пигменты морских ежей, известны своим разнообразным фармакологическим действием: антиоксидантным, противомикробным, противовирусным, кардиопротекторным, нейропротекторным и другими [4]. Несмотря на многочисленные биохимические исследования спинохромов и примеры их использования в лечебной практике, физиологические функции этих соединений у морских ежей далеки от понимания. Причиной этого является отсутствие достаточной информации о качественном и количественном составе спинохромов в организме морских ежей на разных этапах жизни, а также о влиянии факторов внешней среды на их содержание. В настоящее время возможности различных масс-спектрометрических аналитических методик позволяют изучать состав и количественное содержание соединений с высокой чувствительностью для малых количеств природных образцов. Эта работа является результатом многолетних исследований хиноидных пигментов 16 видов морских ежей, собранных в различных районах Тихого океана, с использованием валидированного метода высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с диодной матрицей и масс-спектрометрическим детектором (ВЭЖХ-МС) метод.

Ссылки:

1. MacMunn C.A. // Quart. J. Micr. Sci. 1885. V. 25. P. 469–490.
2. Anderson H.A., Mathieson J.W., Thomson R.H. // Comp. Biochem. Physiol. 1969. Vol. 28. P. 333–345.
3. Drozdov A.L., Vinnikova V.V. // Russ. J. Dev. Biol. 2010. V. 41. P. 37–45.
4. Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Tran V.T.T., Vo H.M.N., Fedoreyev S.A. // Mar. Drugs 2021. V. 19 (1). P. 21.

Изучение *in silico* возможности активации АМР-активируемой протеинкиназы синтетическими 1,4-нафтохинонами

П.В. Гребенкин², Ю.Е. Сабуцкий¹, Г.Н. Лихацкая¹

¹*Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН*

²*Дальневосточный федеральный университет*

Электронная почта: grebenkin.pv@students.dvfu.ru

Аденозинмонофосфат-активируемая протеинкиназа (АМРК) – киназа, активация которой приводит к увеличению скорости метаболических путей, продуцирующих АТФ (поглощение и окисление глюкозы, жирных кислот), и торможению путей, поглощающих АТФ (синтез холестерина, липогенез). Активация АМРК стабилизирует энергетический метаболизм, снижая уровень активных форм кислорода и окислительный стресс, что может приводить к замедлению нейродегенеративных процессов, в т. ч. болезни Паркинсона [1, 2]. АМРК является функциональным тримером с массой 273,33 кДа [3, 4].

Производные 1,4-нафтохинононов фармакологически активны, для них характерны цитотоксичные, антибактериальные, противогрибковые, противовирусные, антиоксидантные, кардиопротекторные и нейропротективные свойства [5].

В данной работе рассматривается возможность активации киназы АМРК синтетическими 1,4-нафтохинонами U-573 и U-443, полученными в ТИБОХ ДВО РАН, обладающими выраженной антипаркинсонической активностью. Пространственные структуры молекул 1,4-нафтохинонов были получены с использованием программы MOE 2022 (демо версия). Стабилизация структур соединений была выполнена с использованием потенциала сил Amber10:ЕНТ. Кристаллическая структура АМРК в комплексе с активатором Merck 991 была получена из базы данных PDB (код PDB 4CFE). Для докинга 1,4-нафтохинонов был выбран аллостерический активационный сайт ADaM [6].

Докинг проходил 30 раз с параметрами London dG, лучшие варианты уточнялись с использованием параметров GBVI/WSA dG. Расчеты оптимальных вариантов сайтов связывания проводились в поле MMFF94x. Установлено, что исследуемые соединения способны связываться с аллостерическим сайтом фермента АМРК. Для U-573 значения свободной энергии связывания ΔE составляет -14,061 ккал/моль, аффинность 10,302 pKi, а эффективность 0,572. Для U-443 значение ΔE -24,693 ккал/моль, аффинность 7,228 pKi, эффективность 0,181. Для Merck 991 ΔE -29,800 ккал/моль, аффинность 10,767 pKi, эффективность 0,347. Были проведены расчеты молекулярной динамики АМРК в комплексе с исследованными 1,4-нафтохинонами при 300 К на протяжении 90 пикосекунд. Показано, что U-573 и U-443 сохраняют стабильность в комплексе с АМРК.

Таким образом, теоретически показана возможность активации АМР-активируемой протеинкиназы синтетическими 1,4-нафтохинонами.

Ссылки:

1. Krishnaswamy V.K.D., Alугоju P., Periyasamy L. // Medical Hypotheses. 2020. V. 143. Art. 109872
2. Hang L., Thundyil J., Lim K.L. // Ann. N-Y. Acad. Sci. 2015. V. 1350. Iss. 1. P. 37-47.
3. Новикова Д.С., Гарабаджиу А.В., Мелино Дж. и др. // Биохимия. 2015. Т. 80. Вып. 2. С. 163 – 183.
4. Yan Y., Zhou X.E., Novick S.J. et al // Signal Transduction. 2019 V. 294. Iss. 3. P. 953-967.
5. Aminin D.L., Polonik S.G. // Chem. Pharm. Bull. 2020. V. 68. Iss. 1. P. 46-57.
6. Xiao B., Sanders M., Carmena D. et al // Nat. Commun. 2013. V. 4. Art. 3017.

Получение новых генотипов картофеля с устойчивостью к холодovому осахариванию

А.А.Егорова^{1,2}, С.В.Герасимова^{1,2}, И.А. Сабоиев¹, Д. Домрачев⁵, И. Коэпфель³, Ш. Хикель³, К. Хертиг³, С. Чамас³, Й. Кумлен³, Е. Рогозина⁴, Н. Чалая⁴, Е.А. Салина¹, А.В. Кочетов^{1,2}

¹ФИЦ Институт Цитологии и Генетики СО РАН

²Новосибирский Государственный Университет

³Институт генетики растений и исследований сельскохозяйственных культур им. Лейбница

⁴Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова

⁵Институт Органической Химии СО РАН

Электронная почта: egorova@bionet.nsc.ru

Картофель (*Solanum tuberosum* L.) – одна из важнейших продовольственных, кормовых, технических культур. Так как в умеренно - климатических зонах урожай картофеля собирают раз в году, осенью, то для круглогодичного использования клубни картофеля традиционно хранят в условиях холода. Холод предотвращает прорастание и усыхание клубней, а также процесс гниения. Однако одним из недостатков хранения клубней картофеля на холоде является накопление редуцирующих сахаров, так называемое, холодovое осахаривание. При этом крахмал распадается на простые редуцирующие (восстанавливающие) сахара – глюкозу и фруктозу. В процессе жарки клубней эти сахара реагируют со свободными аминокислотами, образуя горькие и темноокрашенные продукты, что уменьшает потребительскую ценность картофеля.

Для получения новых генотипов с устойчивостью к холодovому осахариванию мы используем две стратегии. Первая заключается в получении растений культурного картофеля сорта «Симфония» с нокаутом по гену вакуолярной инвертазы *Pain-1*. Вакуолярная инвертаза расщепляет сахарозу на глюкозу и фруктозу и вносит большой вклад в накопление редуцирующих сахаров.

Вторая стратегия заключается в использовании диких видов картофеля как доноров для селекции. *Solanum chacoense* обладает устойчивостью к холодovому осахариванию и другими ценными признаками, но накапливает большое количество токсичных стероидных гликоалкалоидов (СГА). Получение нетоксичных генотипов *Solanum chacoense* будет ценно для селекционных программ. Поэтому мы решили снизить содержание СГА путем нокаута гена *GAME9*, потенциального регулятора синтеза гликоалкалоидов в картофеле.

Для направленных нокаутов генов-мишеней мы использовали систему РНК-направленной эндонуклеазы Cas9. Мы создали конструкции, содержащие гены нРНК и нуклеазы cas9. Активность конструкций была оценена на протопластах картофеля, а для получения мутантных растений был использован метод агробактериальной трансформации листовых эксплантов. Планируется оценка содержания сахаров и гликоалкалоидов в мутантных растениях.

Исследование поддержано грантом РФФИ (20-016-00217) и Курчатовским геномным центром ИЦиГ (075-15-2019-1662).

Изучение структуры метаболитов эхинохрома с использованием дейтериевой метки в почечных экскретах мышей

А.Е. Закирова, Р.С. Попов, В.В. Маханьков, Б.П. Машнев, В.Ф. Ануфриев
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН
Электронная почта: zakirova@piboc.dvo.ru

Проблема ишемической болезни сердца и ишемического инсульта занимает одно из ведущих мест среди важнейших медицинских проблем. Немаловажную роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний играет оксидативный стресс. Поэтому применение препаратов антиоксидантной фармакологической направленности для лечения вышеуказанных заболеваний является актуальным направлением в сочетанной терапии. Гистохром, действующее вещество - эхинохром, является одним из таких лекарственных препаратов вышеуказанного действия.

В нашей работе был синтезирован дейтерированный по этильному радикалу эхинохром. За основу синтеза d_3 -эхинохрома была выбрана схема, описанная для недеитерированного препарата. Она базируется на использовании пирогаллола А (1,2,4-триацетоксибензола), в качестве исходного субстрата. Для адаптации ее к целям настоящего исследования, базовая схема была дополнена конверсией *para*-бензохинона в d_9 -пирогаллол А действием d_3 -уксусного ангидрида в присутствии кислотного катализатора.

Масс-спектр d_3 -эхинохрома, полученный в режиме регистрации отрицательных ионов имеет характеристичный профиль. Этот профиль явился основой для поиска продуктов метаболизма эхинохрома в почечных экскретах мышей линии CD-1. Доза вводимого соединения составляла 5 мг/кг подкожно, ежедневно, в течение 10 дней.

Анализ экстракта мочи мышей методом ВЭЖХ-МС/МС позволил выявить девять продуктов, имеющих характеристичный изотопный профиль. Наиболее гидрофобными из этих продуктов явились монометилловые эфиры d_3 -эхинохрома. Следующим по времени удерживания компонентом анализируемой смеси оказался эхинохром, что следует из сравнения его МС/МС спектра со спектром d_3 -эхинохрома синтезированного в рамках настоящей работы. Таким образом, установлено, что эхинохром, возможно, не полностью метаболизируется в организме и экскретируется почками в неизменном виде.

Конъюгирование с глюкуроновой кислотой является одним из общих путей выведения ксенобиотиков из организма. В ходе ВЭЖХ-МС анализа почечных экскретов были детектированы продукты, отличающиеся значениями времен удерживания и практически идентичными m/z высокого разрешения. В данном случае этими изомерными продуктами с большой долей вероятности являются моноглюкурониды монометилловых эфиров эхинохрома брутто-формулы $C_{19}H_{20}O_{13}$. Так же среди почечных экскретов, кроме моноглюкуронидов монометилловых эфиров эхинохрома, в ходе ВЭЖХ-МС были детектированы продукты, которым соответствуют структуры (5,8-дигидрокси-2,3-диметокси-7-этил-1,4-нафтохинон-6-ил)-, (5,8-дигидрокси-2,6-диметокси-7-этил-1,4-нафтохинон-3-ил)- и (5,8-дигидрокси-3,6-диметокси-7-этил-1,4-нафтохинон-2-ил)-глюкоронида

Таким образом, методом хромато-масс спектрометрии высокого разрешения, с использованием дейтериевой метки, установлено, что после парентерального введения мышам эхинохрома, в почечных экскретах, кроме эхинохрома, содержатся 2(3)-метоксипроизводные эхинохрома, и моноглюкурониды 2(3)-метокси-, 2,3-диметокси-, 2,6-диметокси- и 3,6-диметоксипроизводных эхинохрома, обеспечивающие их водорастворимость.

Направленная модификация гена *HvMyc2*, связанного с голубой окраской зерна ячменя

Т.Е. Зыкова^{1,2}, А.А. Егорова^{1,2}, К.В. Стрыгина⁴, О.Ю. Шоева¹, М.А. Генаев¹, Е.Г. Комышев¹,
И.Д. Бусов², К. Хертиг³, С.В. Герасимова^{1,2}, И. Коэппель³, Ш. Хикель³, А.М. Короткова¹, А.В.
Вихорев^{1,2}, Й. Кумлен³, Е.К. Хлесткина⁴

¹ФИЦ Институт Цитологии и Генетики СО РАН

²Новосибирский Государственный Университет

³Институт генетики растений и исследований сельскохозяйственных культур им. Лейбница

⁴Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова

Электронная почта: t.zykova@g.nsu.ru

Зерна ячменя (*Hordeum vulgare* L.) могут иметь голубую окраску благодаря накоплению антоцианов в алейроновом слое. Антоцианы известны своей антиоксидантной активностью и положительным влиянием на здоровье человека, поэтому насыщение данными соединениями съедобных частей растений, в том числе зерновок ячменя, является актуальной задачей.

В предыдущих исследованиях было показано, что транскрипционный фактор MYC2 потенциально ответствен за развитие голубой окраски в зернах ячменя, а также однонуклеотидная инсерция в гене *HvMYC2* приводит к потере функции гена [1]. Поэтому мы решили использовать систему РНК-направленной эндонуклеазы Cas9 для восстановления функции гена *HvMYC2* и получения новых разновидностей ячменя, имеющих голубую окраску зерна.

Было выбрано два сайта-мишени на кодирующей последовательности гена *HvMYC2* и созданы конструкции, содержащие гены нРНК и нуклеазы cas9. Активность конструкций была оценена на протопластах ячменя, а для получения мутантных растений был использован метод агробактериальной трансформации незрелых зародышей. Трансформация проводилась на модельном сорте Golden Promise, имеющем неокрашенные зерновки. В поколении T0 было получено 49 мутантных растений, из которых 8 было выбрано для дальнейшего получения поколений T1 и T2.

Фенотипический анализ проводился путем статистической обработки данных о цифровых изображениях зерен ячменя в 4 разных цветовых моделях (RGB, HSV, Lab, YCrCb). Выявленные в ряду статистических тестов достоверные отличия по синему компоненту цвета зерен между группой мутантов с делецией -4 и исходным неокрашенным сортом могут говорить о возможном восстановлении функции гена *HvMYC2* при направленном внесении мутации, приводящей к восстановлению его исходной рамки считывания.

Ссылки:

1. Strygina K.V., Börner A., Khlestkina E.K. // BMC Plant Biol. 2017. V. 17(1). P. 184.

Исследование поддержано грантом РФФ (21-66-00012).

Репозиционирование лекарств для поиска потенциальных неазольных ингибиторов стерол-14- α -деметилазы (CYP51) грибов рода *Candida*

Л.А. Калужский¹, П.В. Ершов¹, Е.О. Яблоков¹, Ю.В. Мезенцев¹,
О.В. Гнеденко¹, Т.В. Шкель², А.А. Гилеп^{1,2}, А.С. Иванов¹
¹ФГБНУ НИИ биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича
²Институт биоорганической химии НАН Беларуси
Электронная почта: leonid.kaluzhskiy@ibmc.msk.ru

Условно-патогенные грибы рода *Candida* являются основными возбудителями микозов, которые особенно тяжело протекают при наличии приобретенного иммунодефицита. Основной мишенью применяемых в клинической практике антимикотиков является стерол-14- α -деметилаза (цитохром P450(51), CYP51). Вследствие широкого распространения штаммов *Candida*, резистентных к ингибиторам класса азолов, актуальность приобретает поиск новых ингибиторов CYP51 как среди соединений неазольной природы, в том числе среди применяемых в клинике лекарственных средств, репозиционируемых в качестве антимикотиков.

Был проведён анализ опубликованных данных о проявляемой *in vitro* антимикотической активности среди известных лекарственных препаратов. Для семи отобранных соединений (ацетилсалициловая кислота, ибупрофен, галоперидол, хлорпромазин, трифлуоперазин, флунаризин и циннаризин) с помощью программы PassOnline была предсказана потенциальная ингибиторная активность в отношении CYP51. С использованием метода молекулярного докинга были построены модели комплексов трёх соединений (ацетилсалициловая кислота, ибупрофен и галоперидол) в активном центре CYP51 *Candida albicans* и CYP51 *Candida glabrata*. С помощью SPR технологии были определены значения равновесной константы диссоциации комплексов (Kd) этих соединений с CYP51 обоих штаммов *Candida*, которые находились в диапазоне порядка 18-126 мкМ.

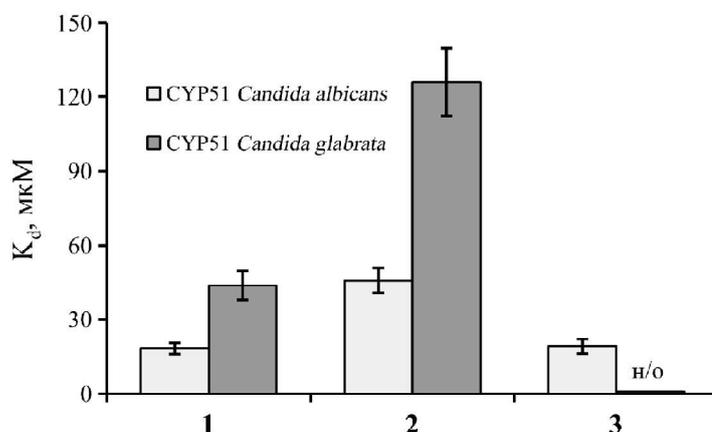


Рисунок 1. Равновесные константы диссоциации комплексов (Kd) ацетилсалициловой кислоты (1), галоперидола (2) и ибупрофена (3) с CYP51 *Candida albicans* и CYP51 *Candida glabrata*. н/о — взаимодействие не было определено.

Работа была выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021 - 2030 годы) и при поддержке гранта РФФИ № 20-04-00014.

Свойства и специфичность бета-литической металлоэндопептидазы *Lysobacter capsici*

М.А. Константинов¹, А.С. Афошин², И.В. Кудрякова², Н.В. Васильева², И.Ю. Торопыгин¹

¹ФГБНУ НИИ биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича

²ФИЦ Пуцинский научный центр биологических исследований РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН

Электронная почта: mishanyamihail@ya.ru

Золотым стандартом для части протеомики, касающейся идентификации белков, является трипсин. Однако на сегодняшний день сохраняется потребность в использовании альтернативных протеаз. В этом плане представляет интерес бета-литическая металлоэндопептидаза *Lysobacter capsici* (БлМП), в качестве комплементарной протеазы. Наше исследование показало, что пептиды, получаемые в результате гидролиза БлМП, являются оптимальными для идентификации белков. При этом гидролиз, в основном, проходит по карбонильным группам полярных аминокислот и аланина. Сайт-специфичность этого фермента была изучена на ряде белков, а полученный набор пептидов был проанализирован с использованием MALDI-TOF масс-спектрометрии.

Также было показано, что БлМП проявляет бактериолитическую активность по отношению к антибиотикорезистентным штаммам живых стафилококков, что потенциально может дать возможность ее использования в качестве противомикробного агента.

Поэтому для дальнейшего использования БлМП необходимо изучение ее свойств: влияния микроокружения, поиск оптимальных условий и скорости гидролиза.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в РФ №122030100168-2

Роль белок-липидных контактов в димеризации трансмембранных доменов рецепторных тирозинкиназ

А.С. Кузнецов, Р.Г. Ефремов

НИУ «Высшая школа экономики»

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

Электронная почта: akuzneczov@hse.ru

Взаимодействия спиральных трансмембранных доменов белков лежат в основе работы важнейших компонентов клеточной мембраны: рецепторов и ионных каналов. Среди всех мембранных белков рецепторные тирозинкиназы выделяются наиболее простым строением — их трансмембранный домен представлен одной альфа-спиралью. Одновременно, именно эти белки вовлечены в важнейшие сигнальные пути, регулирующие жизнедеятельность клетки. Создание молекул, модулирующих активность отдельных рецепторов в норме и патологии является актуальной задачей для терапии рака, диабета, атеросклероза и прочих заболеваний. Применение методов экспериментальной структурной биологии сталкивается со сложностями при попытке выявления роли белок-липидных взаимодействий в процессе работы рецепторов. Поэтому в настоящей работе применяли методы компьютерного атомистического моделирования для детального описания процессов, происходящих в модельной мембране вблизи трансмембранных доменов белков. При построении моделей опирались на экспериментальные данные, а результаты сопоставляли с фактами из литературы. Одним из важнейших результатов стала количественная оценка вклада белок-липидных взаимодействий в свободную энергию формирования димерного состояния белка в мембране — показали, что для ряда рецепторов мембрана может играть ключевую роль в процессе формирования активных димерных состояний. Анализ белок-липидных контактов позволил выявить ряд закономерностей в распределении областей связывания липидов для гликофорин-подобных сайтов димеризации. Так, в случае когда сайт не занят вторым мономером белка, с ним взаимодействовали ацильные цепи молекул липидов. При формировании димера ТМД молекулы липидов вытеснялись из сайта и образовывали характерные «паттерны» (сгустки плотности) в карманах вблизи области контакта мономеров. Сходство в организации таких белок-липидных сайтов взаимодействия у разных рецепторов позволило выдвинуть предположение об общей структурной и функциональной роли прилежащих липидов. Изменение средней плотности и, следовательно, подвижности отдельных молекул липидов вблизи димера может являться одним из этапов передачи сигнала рецептором внутрь клетки, так как внутриклеточный домен сильно связан с поверхностью мембраны в неактивном состоянии. Таким образом, результаты моделирования позволяют непосредственно увидеть участие липидов мембраны в формировании активных и неактивных конформаций димеров трансмембранных доменов, что впоследствии может быть использовано для создания пептидных модуляторов их активности.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных исследований НИУ ВШЭ.

Реакция хинониминов ряда пиридобензимидазола с N-ацетилцистеином

Г. А. Курбанова, О. Ю. Слабко

Дальневосточный федеральный университет

Электронная почта: kurbanova.ga@students.dvfu.ru

Гетероциклические хиноидные соединения представляют как теоретический интерес, связанный с их высокой и своеобразной реакционной способностью, так и практическую ценность, прежде всего, в плане биологической активности. Многие гетероциклические хиноидные структуры входят в состав ряда антибиотиков [1] и фитотоксинов [2]. С другой стороны, пиридобензимидазол является фармакофорной основой для целого ряда препаратов, проявляющих анальгетические свойства [3].

Для нас представлял интерес введения в молекулу хиноидного производного пиридо[1,2-а]бензимидазола аминокислотного фрагмента. Это, с одной стороны может привести к изменению биологически активных свойств данных соединений, а с другой – введение диполя обязательно приведет к увеличению водорастворимости, что является немаловажным требованием к биологически активным препаратам. Чтобы ввести аминокислотный фрагмент, было решено проводить нуклеофильную реакцию с производным аминокислоты – N-ацетилцистеином (NAC), широко известным своими муколитическими и антиоксидантными свойствами [4].

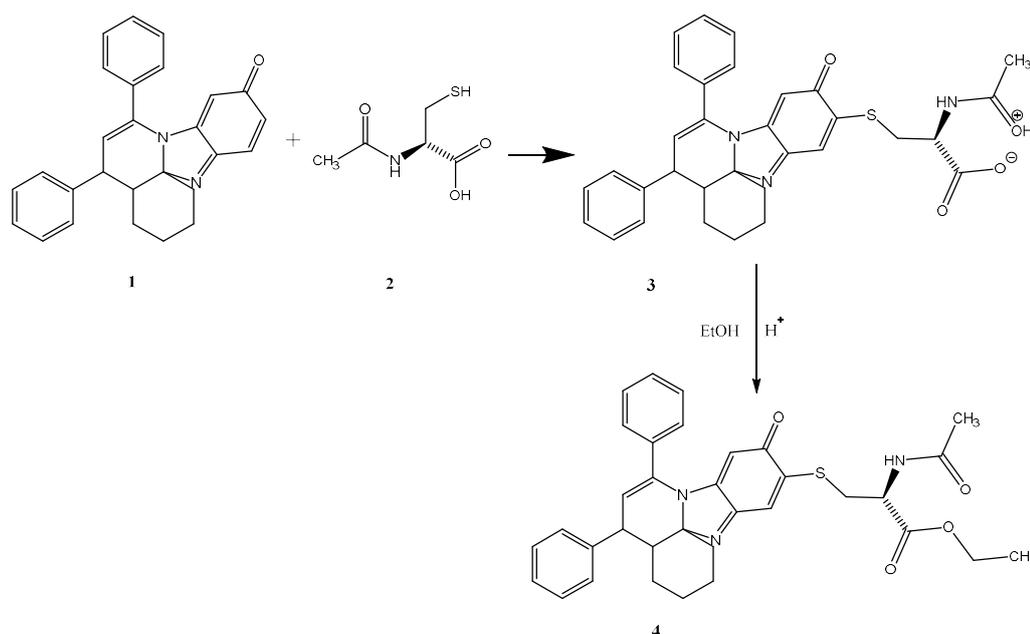


Рисунок 1. Предполагаемая схема реакции взаимодействия хинонмоноимина ряда пиридобензимидазола с NAC

Ссылки:

1. Ito M., Sakai N., Ito K., Mizobe F., Bhandari R., Eguchi T., Kakinuma K., Hanada K., Mizoue K. // *J. Antibiot.* 1999. V. 52. № 3. P. 224-230.
2. Kinjo I., Yokomizo K., Awata I., Shibata M., Nohara T., Teramine T., Takohashi K. // *Tetrahedron Lett.* 1987. V. 28. № 32. P. 3697-3698.
3. Бабаев, Е. В. // *Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева)*. 2009. Т. 53. № 5. С. 140-152.
4. Aruoma O.I. // *Free Radic. Biol. Med.* 1989. V. 6. N. 6. P. 593-597.

Новые тритерпеновые гликозиды из голотурии *Psolus chitonoides* (сем. Psolidae, отряд Dendrochirotida)

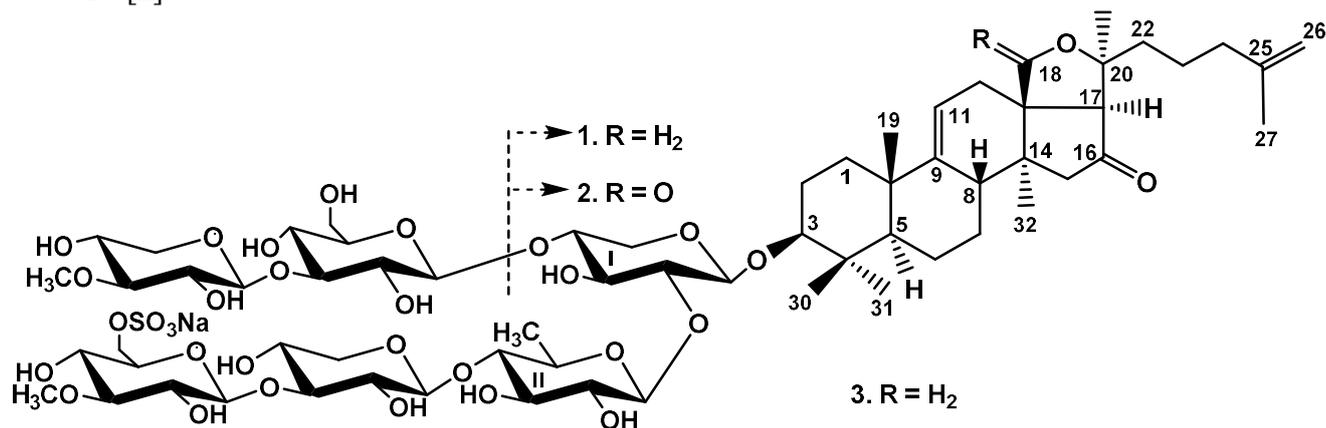
Д.Д. Куфтина¹, А.С. Сильченко²

¹Дальневосточный федеральный университет

²Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: kuftinad@mail.ru

Голотурии (класс Holothuroidea) – морские беспозвоночные, принадлежащие к типу Иглокожие (Echinodermata), биосинтезирующие необычные для других животных метаболиты – тритерпеновые гликозиды. Их молекулы состоят из агликонной части (голостанового или неголостанового ряда) и углеводной цепи, содержащей от двух до шести моносахаридных остатков. Новые тритерпеновые гликозиды, хитаноидозиды А (1), А₁ (2), В (3), были выделены из голотурии *Psolus chitonoides*, их структуры установлены на основе комплексного анализа данных ЯМР спектроскопии (¹H, ¹³C ЯМР, 1D TOCSY, ¹H–¹H COSY, HSQC, HMBC, ROESY) и подтверждены данными масс-спектрометрии высокого разрешения с ионизацией электрораспылением (HR ESI MS) [1]. Хитаноидозиды А (1) и В (3) содержали новый неголостановый агликон с 18,20-эфирной связью вместо соответствующего лактона (в голостановых агликонах). Такие структурные особенности данного агликона, как 9(11)- и 25(26)-двойные связи, 16-кетогруппа в тритерпеновом ядре, характерны и для множества других гликозидов голотурий. Агликоном хитаноидозиды А₁ (2) был широко распространённый в гликозидах голотурий голотоксिनогенин, отличающийся от нового агликона наличием 18(20)-лактона. Углеводные цепи выделенных гликозидов также оказались новыми. Хитаноидозиды А (1) и А₁ (2) имели одинаковые тетрасахаридные линейные цепи с одной сульфатной группой при С-6 терминального остатка 3-*O*-метилглюкозы, тогда как в положении 4 первого остатка ксилозы, которое обычно первым подвергается сульфатированию, имелась свободная гидроксильная группа. Ещё одним открытием стало наличие в гексасахаридной углеводной цепи хитаноидозиды В (3) терминального остатка 3-*O*-метилксилозы. Ни один из ранее исследованных видов голотурий рода *Psolus* не содержал данного моносахаридного остатка в гликозидах. Особенностью соединения 3 являлось и наличие сульфатной группы, так как сульфатированные гексаозиды впервые были найдены лишь в 2017 г. в голотурии *Cladolabes shmeltzii* [2].



Ссылки:

1. Silchenko A.S. et al. // *Mar. Drugs*. 2021. V. 19, No. 8. 449. P. 1–19.
2. Silchenko A.S. et al. // *Carbohydr. Res.* 2017. V. 445. P. 80–87.

Исследование функциональной роли гена *Ant25*, контролирующего синтез проантоцианидинов в зерне ячменя

М.А. Муханова^{1,2}, И.В. Тоцкий¹, О. Ю. Шоева^{1,2}
¹ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
²Новосибирский Государственный Университет
Электронная почта: m.shishkina@g.nsu.ru

Проантоцианидины представляют собой олигомерные флавоноидные соединения, относящиеся к классу растительных полифенолов. Благодаря антиоксидантной активности, они выполняют защитные функции в жизни растений. Одновременно с этим показано их негативное влияние на усвоение корма и набор массы у сельскохозяйственной птицы, и на коллоидную стойкость пива. В связи с чем актуальным направлением селекции ячменя является получение сортов, у которых отсутствует или снижен биосинтез этих веществ. Была создана коллекция мутантов с нарушенным синтезом проантоцианидинов и родственных им антоцианов, насчитывающая 766 индивидуальных мутантов, которые с помощью тестов на аллелизм были сгруппированы в 30 групп комплементации, или локусов (Lundqvist, 2014).

Неудачные попытки использовать в селекции беспроантоцианидиновых сортов мутанты, у которых мутации затрагивали гены основного пути биосинтеза флавоноидов, объясняются важностью этих соединений в росте и развитии растений (Dixon et al., 2005). Чтобы минимизировать негативные последствия от таких мутаций, были предприняты попытки использовать линии, в которых мутации затрагивали только синтез проантоцианидинов, тогда как синтез других флавоноидных соединений, включая антоцианы, не менялся, либо изменялся незначительно. К таким мутантам относится *ant25.264*, полученный на основе сорта Secobra18193 с помощью химического мутагенеза. Однако локализация гена *Ant25* и его молекулярные функции до сих пор не известны. Целью работы является исследование функциональной роли гена *Ant25* в биосинтезе проантоцианидинов ячменя, а также его влияние на рост и развитие растений. Исследование проводилось с помощью анализа функциональной активности генов общего фенилпропаноидного (*Pal*) и флавоноидного (*F3h* и *Lcr*) путей биосинтеза в зерне у мутанта *ant25.264* и сорта Secobra 18193. Для этого проводилось выделение РНК в трех повторностях из развивающегося колоса и зерна на ранней молочной и восковой стадиях спелости у мутанта *ant25.264* и сорта Secobra 18193. С помощью реакции обратной транскрипции на основе выделенной РНК получили кДНК, которая далее использовалась для проведения ПЦР в режиме реального времени для оценки количественного содержания транскриптов генов *Pal*, *F3h*, *Lcr*. Было показано значимое снижение экспрессии этих генов у мутанта по сравнению с родительским сортом.

С помощью сравнительного структурного анализа было показано, что сорт Secobra18193 по массе корня, массе побега, количеству боковых побегов и массе зерна с растения значимо превосходил мутант *ant25.264* ($p \leq 0,05$, *U*-тест), однако по длине главного побега значимых различий между мутантом и его родительским сортом не наблюдалось. Полученные результаты указывают на то, что ген *Ant25* не только участвует в регуляции синтеза проантоцианидинов в зерне ячменя, но также имеет плейотропный эффект на рост и развитие растений ячменя.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ №21-76-10024.

Влияние условий культивирования на продукцию дезоксиизоаустамидных алкалоидов морским грибом *Penicillium dimorphosporum* КММ 4689

Л.Е. Нестеренко^{1,2}, Е.А. Юрченко¹

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова, ДВО РАН

²Дальневосточный федеральный университет

Электронная почта: nesterenkoliliana@yandex.ru

В настоящее время морские грибы привлекают к себе большое внимание благодаря тому, что являются богатыми источниками новых метаболитов с уникальными химическими структурами, проявляющих разнообразную биологическую активность. Изменение условий культивирования морских грибов способно привести к изменению метаболитного профиля или увеличению выхода целевых биологически активных метаболитов [1].

Ранее в Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН (ТИБОХ ДВО РАН) из культуры морского гриба *Penicillium dimorphosporum* КММ 4689 была выделена серия индольных дезоксиизоаустамидных алкалоидов. Некоторые из выделенных соединений проявили нейропротекторную активность [2].

В продолжение этих исследований было изучено влияние условий культивирования гриба *P. dimorphosporum* КММ 4689 на выход выделенных биологически активных алкалоидов. Культивирование проводили при температурах 21–24 °С и 30 °С и при содержании морской соли от 0 до 50 г/л культуральной среды.

Полученные после культивирования экстракты были исследованы методом ВЭЖХ-МС, и в хроматограммах были обнаружены пики, отнесенные с помощью базы данных Лаборатории химии микробных метаболитов ТИБОХ ДВО РАН к дезоксиизоаустамидным алкалоидам. Было установлено, что культивирование при повышенной температуре приводит к увеличению содержания 16,17-дигидроксидиоксидигидроизоаустамидов, обладающих нейропротекторной активностью. Наибольшее содержание этих соединений было обнаружено в экстракте гриба, культивированного при 30 °С и при концентрации морской соли 50 г/л.

Также в экстрактах были обнаружены пики, отнесенные с помощью базы данных GNPS, к алкалоидам бревинамиду F, трипростатину В и аустамиду, ранее не выделявшиеся из *P. dimorphosporum* КММ 4689.

Идентификация бревинамида F, трипростатина В и аустамида во всех изученных экстрактах совместно с дезоксиизоаустамидными алкалоидами позволило предположить пути биогенеза алкалоидов в грибе *P. dimorphosporum* КММ 4689 и предложить схему их биосинтеза.

Ссылки:

1. Igboeli H.A., Marchbank D.H. et al. // Mar. Drugs. 2019. Vol. 17, N. 8. Art. 435.
2. Overy D., Correa H. et al. // Mar. Drugs. 2017. Vol. 15. N. 8.
3. Zhuravleva O.I., Antonov A.S. et al. // Mar. Drugs. 2021. Vol. 19, N. 32.

Механизм межмолекулярного распознавания мишени лантибиотиками типа А: низином, эпидермином и галлидермином

И.С. Панина^{1,2}, А.Х. Тальдаев³, А.О. Чугунов^{1,2}, Р.Г. Ефремов^{1,2}

¹НИУ «Высшая школа экономики»

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

³Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

Минздрава России

Электронная почта: irinaspanina@gmail.com

Лантибиотики — небольшие посттрансляционно-модифицированные антимикробные пептиды, относящиеся к классу I бактериоцинов. Характерной особенностью лантибиотиков является наличие в их составе кольцевых структур, образованных неканоническими аминокислотными остатками лантионин и/или метиллантионин. Интерес к изучению лантибиотиков связан с возможностью их применения в качестве новых антимикробных агентов в медицине и ветеринарии, ввиду низкой вероятности развития резистентности к ним у патогенов. Большинство лантибиотиков имеют специфическую мишень в мембране бактерий — молекулу-предшественника клеточной стенки — липид II. Представители лантибиотиков класса А, в частности, низин, эпидермин, галлидермин, селективно распознают на поверхности мембраны и связывают за счет двух первых лантиониновых колец А (остатки 3-7) и В (остатки 8-11) в прочный комплекс пирофосфатную группу липида II. Несмотря на многочисленные исследования и потенциальную клиническую значимость лантибиотиков, детальный молекулярный механизм их селективного действия остается неизвестным.

В настоящей работе с помощью метода молекулярной динамики (МД) был изучен процесс межмолекулярного распознавания N-концевыми фрагментами (остатки 1-12) лантибиотиков низин, эпидермин и галлидермин аналога их мишени — молекулы диметилпирофосфата (ДМПФ) в водном растворе. Для изучаемых пептидов была установлена единая комплексообразующая конформация, характеризующаяся близким расположением колец А и В, стабилизированная 1-2 водородными связями (Н-связями) между кольцами. Это состояние присутствует также в конформационных ансамблях изолированных пептидов, однако, в присутствии мишени времена его существования могут увеличиваться вдвое, достигая уровня заселенности ~90% в случае эпидермина₁₋₁₂. Связывание ДМПФ происходит преимущественно за счет межмолекулярных Н-связей с NH-группами основной цепи, число которых для низина₁₋₁₂ (4-5) значительно меньше, чем для галлидермина₁₋₁₂ и эпидермина₁₋₁₂ (6-7), что согласуется с экспериментальными данными [1]. Показано, что усиление связывания ДМПФ в случае галлидермина и эпидермина достигается за счет: (а) отсутствия в кольце А sp²-гибризованного Са атома; (б) наличия дополнительных доноров Н-связей — боковой цепи Lys4. Результаты исследования могут быть применены для рационального дизайна новых антибактериальных препаратов на основе лантибиотиков. Расчеты проводили в программном пакете Gromacs версии 2020.04 с использованием параметров модифицированного тяжелоатомного силового поля Gromos G43a2.

Ссылки:

1. Bonelli R., et al. // Antimicrob. Agents Chemother. 2006. Vol. 50. P. 1449–1457.

Работа выполнена в рамках программы фундаментальных исследований НИУ ВШЭ. Суперкомпьютерные расчеты выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант 19-74-30014).

Экспрессия генов глутаматных и дофаминовых D1- и D2-рецепторов в гиппокампе и престаимпульное торможение у крыс с генетической кататонией

В.С. Плеканчук^{1,2}, О.И. Прокудина¹, М.А. Рязанова¹

¹ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН

²Новосибирский государственный университет

Электронная почта: lada9604@mail.ru

Крысы линии ГК («генетическая кататония») проявляют защитно-оборонительные реакции каталептического ступора и гипервозбуждения. Такой тип кататонических реакций характерен для людей с шизофренией и с аффективными расстройствами, и в связи с этим данная линия крыс предлагается в качестве модели шизофреноподобной психопатологии. Одним из критериев моделирования таких нарушений у животных является нарушение PPI (престаимпульного торможения). Предполагают, что в основе кататонического синдрома лежат изменения в рецепторном звене нейромедиаторных систем, в частности: низкая активность дофаминовых D2-рецепторов и изменения трансмиссии глутамата через глутаматные рецепторы [1].

Цели: Изучение PPI, уровня мРНК субъединиц генов ионотропных, метаботропных глутаматных и дофаминовых рецепторов (*Gria1*, *Grin1*, *Grin2a*, *Grin2b*, *Grm2*, *Grm3*, *Drd1*, *Drd2*) у крыс линии ГК.

Методы: ПЦР в реальном времени, исследование PPI в установке TSE Startle Response System.

Результаты: показан дефицит престаимпульного торможения при силе престаимула 85 дБ у крыс с генетической кататонией. Выявлено снижение количества мРНК гена *Grm3*, кодирующего метаботропный рецептор mGlu3, в гиппокампе крыс линии ГК. Помимо глутаматной системы, изучали экспрессию генов дофаминовых D1- и D2-рецепторов: у крыс линии ГК концентрация мРНК в гиппокампе была ниже, чем у контроля.

Выводы: Для крыс линии ГК характерно снижение PPI, что свидетельствует о нарушении фильтрации сенсомоторной информации и функциональном сходстве модели шизофренической психопатологии с прототипом. Снижение экспрессии генов *Grm3*, *Drd1* и *Drd2* в гиппокампе может влиять на поведение и способствовать дефициту PPI у крыс с генетической кататонией.

Ссылки:

1. Carroll, B. T. The universal field hypothesis of catatonia and neuroleptic malignant syndrome // CNS Spectrums. 2000. V 5(7). P. 26–33.

Данная работа была выполнена при поддержке бюджетного проекта FWNR-2022-0019.

Полисахаридные плёнки на основе каррагинана и хитозана, как системы для доставки лекарственных средств

Э.Ю. Сон¹, А.В. Володько²

¹ Дальневосточный федеральный университет

² Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: son.eiu@students.dvfu.ru

Доставка терапевтического соединения к месту назначения является серьёзной задачей при лечении многих заболеваний. Благодаря системе для доставки лекарств (СДЛ) активное вещество транспортируется к месту действия, за счет этого минимизируются его влияние на жизненно важные ткани и нежелательные побочные эффекты. В СДЛ активное вещество защищено от быстрой деградации, увеличивается концентрация лекарства в тканях-мишенях, что приводит к снижению дозировки. Эта современная форма терапии особенно важна, когда существует несоответствие между дозой или концентрацией лекарства и его терапевтическими результатами или токсическими эффектами. СДЛ должны быть биосовместимыми, биоразлагаемыми, иметь желаемое биораспределение, обеспечивающее долгосрочную доступность терапевтического средства для конкретной цели с течением времени, а также не снижать активности введенного в них лекарственного препарата.

В качестве основы СДЛ приоритетными для исследования являются полисахариды морского происхождения, благодаря их физико-химическим свойствам, доступности получения и разнообразию возобновляемых источников. Среди таких полисахаридов важное место занимают каррагинан и хитозан.

В данной работе в качестве СДЛ получены полисахаридные плёнки на основе каррагинанов различных структурных типов и хитозана. Образцы каррагинанов были выделены из красных водорослей *S. armatus* и *T. crinitus*. Молекулярная масса образцов получена вискозиметрическим методом. ИК-спектры образцов соотнесены с ранее описанными структурами [1]. Выделенные каррагинаны представлены λ -, κ/β - и χ -типом (295 ± 1 , 250 ± 26 и 775 ± 19 кДа, соответственно).

Методом литья раствора полисахаридов в форму на уравновешенную подложку получены однослойные плёнки каррагинанов, хитозана, а также трёхслойные плёнки, содержащие слой полиэлектrolитного комплекса каррагинан-хитозан. В полученные однослойные и трёхслойные полисахаридные плёнки включен эхинохром А, действующее вещество препарата Гистохром®, применяемого в кардиологии и офтальмологии. Толщина полученных полисахаридных плёнок и составила 10-16 мкм, влажность не более 10%.

Исследован краевой угол смачивания плёнок, его значение увеличивается для нагруженных эхинохромом однослойных плёнок каррагинана по сравнению с незагруженными.

Проведена инструментальная количественная оценка мукоадгезивных свойств полученных плёнок к слизистой ткани внутренней поверхности тонкой кишки свиньи. Значения мукоадгезивных свойств для трёхслойных плёнок выше, чем для однослойных. Трёхслойная плёнка, содержащая λ -каррагинан, показывает самые высокие значения мукоадгезивных свойств независимо от стороны контакта со слизистой. Включение эхинохрома не снижает мукоадгезивных свойств полисахаридов. Все исследованные плёнки проявляют мукоадгезивные свойства и могут рассматриваться, как мукоадгезивные системы для доставки активного вещества.

Ссылки:

1. Varabanova, A.O.; Yermak, I.M.; Glazunov, V.P.; Isakov, V. V.; Titlyanov, E.A.; Solov'eva, T.F. // *Biochemistry (Moscow)*. 2005. V. 70. №. 3. P. 350-356.

Новые флавоноиды из *Lespedeza hedysaroides* - ингибиторы α -N-ацетилгалактозаминидазы из культуры раковых клеток NuTu 80

С.С. Старновская¹, Р.А. Шкрабов^{1,2}, Д.В. Тарбеева¹, Н.Д. Похило¹, И.Ю. Бакунина¹, С.П. Ермакова¹, С.А. Федорев¹

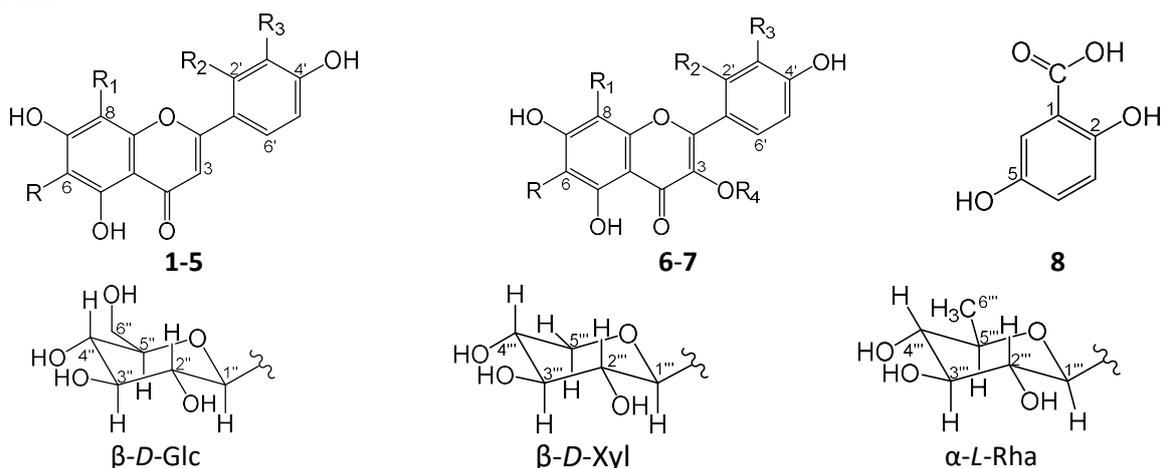
¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

²Дальневосточный федеральный университет

Электронная почта: starnovskaia.ss@dvmfu.ru

Природные ресурсы Российского Дальнего Востока и Приморского края, в частности, предоставляют широкие возможности для получения разнообразных лекарственных средств из известных лекарственных растений. Целью данной работы явилось выделение и установление строения полифенольных метаболитов из надземной части растения *L. hedysaroides*, собранных на юге Приморского края Российской Федерации и изучение их антиоксидантных свойств.

Из надземной части растения *L. hedysaroides*, произрастающего на юге Приморского края, выделены и идентифицированы пять С-гликозидов и два О-гликозида флавоноидов, четыре из которых и гентизиновая кислота в *L. hedysaroides* (*juncea*) обнаружены впервые. ДФПГ-акцепторный и железовосстанавливающий эффекты у флавоноидов **1**, **2**, **4** и **6** были выше, чем у ионола, но ниже, чем у кверцетина, причем отсутствие в структурах флавоноидов **3** и **5** гидроксильной группы при С-3' в кольце В существенно снижало их антиоксидантные свойства.



- 1:** R = H, R₁ = β -D-Glc, R₂ = H, R₃ = OH; **2:** R = β -D-Glc, R₁ = H, R₂ = H, R₃ = OH, R₄ = H;
3: R = β -D-Glc, R₁ = H, R₂ = H, R₃ = H;
4: R = β -D-Xyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-Glc, R₁ = H, R₂ = H, R₃ = OH;
5: R = β -D-Xyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-Glc, R₁ = H, R₂ = H, R₃ = H;
6: R = H, R₁ = H, R₂ = H, R₃ = OH, R₄ = α -L-Rha-(1 \rightarrow 6)- β -D-Glc;
7: R = H, R₁ = H, R₂ = OH, R₃ = H, R₄ = α -L-Rha-(1 \rightarrow 6)- β -D-Glc; **8:** Гентизиновая кислота.

α -N-ацетилгалактозаминидаза, продуцируемая злокачественными опухолями, в настоящее время является признанной терапевтической мишенью при лечении рака. Выделенные соединения **1** – **5** проверены на способность к ингибированию активности α -N-ацетилгалактозаминидазы, изолированной из культуры раковых клеток аденокарциномы двенадцати перстной кишки линии NuTu 80. Показано, что в диапазоне концентраций 0,17 – 2,0 мМ соединения **1**, **4** и **5** являются конкурентными ингибиторами фермента с константами ингибирования (K_i), равными 1,74, 0,61 и 0,22 мМ соответственно.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 20-04-00591.

Нейропротективные и противовирусные свойства полифенольных соединений из *Lepedeza bicolor*

Д.В. Тарбеева¹, С.А. Федореев¹, Е.А. Пислягин¹, Д.Л. Аминин¹, Е.С. Менчинская¹, Н.В. Крылова², О.В. Иунихина², М.Ю. Щелканов²

¹ Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

² НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова, Роспотребнадзор

Электронная почта: tarbeeva1988@mail.ru

В данной работе из коры корней и коры стеблей *L. bicolor* мы выделили 11 пренилированных полифенольных соединений: новый куместан леспебикуместан А (1) и новый стильбеноид 5'-изопренилбиколокетон (2), а также четыре ранее известных птерокарпана ((6aR,11aR)-6a,11a-дигидролеспедезол А₂ (3), (6aR,11aR,3'S)-6a,11a-дигидролеспедезол А₃ (4), 6aR,11aR,3'R-6a,11a-дигидролеспедезол А₃ (5), (6aR,11aR)-2-изопренил-6a,11a-дигидролеспедезол А₂ (6)), два птерокарпена (леспедезол А₂ (7), леспедезол А₃ (8)), куместан леспедезол А₆ (9), стильбеноид биколокетон (10) и димерный флавоноид леспебиколин В (11).

Известно, что птерокарпаны и родственные им полифенолы являются перспективными нейропротекторными и противовирусными агентами. Для изучения нейропротекторной активности полифенольных соединений из *L. bicolor* и их влияния на митохондриальный мембранный потенциал мы использовали модель окислительного стресса, вызванного ротеноном, паракватом и 6-гидроксидофамином. Птерокарпаны 5, 6, стильбеноид 10 и димерный флавоноид 11 значительно повышали жизнеспособность клеток, обработанных паракватом, но только птерокарпан 6 незначительно снижал уровень АФК в таких клетках. Птерокарпан 5 и стильбеноид 10 эффективно увеличивали потенциал митохондриальной мембраны в клетках, обработанных паракватом. Птерокарпаны 4 и 5, содержащие 3'-метил-3'-изогексенилпирановое кольцо, птерокарпены 7 и 8 с двойной связью между С-6а и С-11а и куместан 9 значительно повышали жизнеспособность клеток, обработанных 6-гидроксидофамином, за счет снижения уровня внутриклеточных АФК. Полученные результаты согласуются с хорошей железовосстанавливающей и антирадикальной активностью этих соединений. Таким образом, полифенолы из *L. bicolor* предохраняют нейроны от окислительного стресса в основном за счет снижения уровня внутриклеточных АФК.

Мы также впервые исследовали способность пренилированных полифенолов из *L. bicolor* ингибировать репликацию вируса простого герпеса (ВПГ-1) в клетках Vero. При предварительной обработке ВПГ-1 полифенольными соединениями (прямой вирулицидный эффект) установлено, что леспедезол А₂ (7), (6aR,11aR)-6a,11a-дигидролеспедезол А₂ (3), (6aR,11aR)-2-изопренилдигидролеспедезол А₂ (6), (6aR,11aR,3'R)-дигидролеспедезол А₃ (5) значительно ингибировали репликацию вируса с индексом селективности (SI) ≥ 10. Соединение 6 обладало самыми низкими значениями ИК₅₀ и самыми высокими значениями SI (2,6 мкМ и 27,9 соответственно) в этом тесте. (6aR,11aR)-2-изопренилдигидролеспедезол А₂ (6) также оказывал умеренное действие при одновременной обработке клеток Vero тестируемым соединением и вирусом ВПГ-1.

Загрязнение зообентоса озера Байкал активными фармацевтическими субстанциями

Т.Ю. Тельнова, М.М. Моргунова, С.С. Шашкина, А.А. Власова, Д.В. Аксенов-Грибанов
Иркутский государственный университет
Электронная почта: telnovatamara1410@gmail.com

Загрязнение водоемов различными токсикантами и лекарственными препаратами является одной из значимых и актуальных проблем. Именно лекарственные препараты могут оказывать непредсказуемые и негативные эффекты на водные экосистемы и их обитателей. Известно, что накопление организмами лекарственных препаратов может приводить как к нарушению пищевых цепей, так и к непосредственной гибели отдельных особей.

Особую значимость приобретают исследования по анализу содержания лекарственных препаратов в эндемичных обитателях древних экосистем. Одной из таких экосистем, отличающихся своей структурной и экологической сложностью, выступает экосистема озера Байкал и ее обитатели. Ранее для экосистемы озера Байкал проведены лишь единичные исследования, направленные на оценку содержания лекарственных препаратов в водах озера, тогда как в научной литературе отсутствуют упоминания об оценке содержания лекарственных препаратов в образцах беспозвоночных организмов. Целью данного исследования являлось выявление лекарственных препаратов в амфиподах озера Байкал с помощью подходов высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС).

Оценку контаминации экосистемы лекарственными препаратами проводили на примере эндемичных амфипод родов *Eulimnogammarus*, *Brandtia* и *Pallasea*, собранных в районе пос. Большое Голоустное, пос. Листвянка и р. Ангара в черте г. Иркутск. Для проведения качественного анализа и определения параметров ионизации молекул применяли 33 лекарственных препарата, таких как ацетилсалициловая кислота, ибупрофен, амикацин, окситетрациклин и др. Исследования выполнены на базе хромато-масс-спектрометрического комплекса Agilent Infinity II с масс-спектрометрическим детектором Agilent 6470B(QQQ).

В ходе настоящего исследования был показан факт наличия лекарственных препаратов в обитателях озера Байкал в следовых количествах. Установлено, что от 63% до 100% амфипод различных популяций загрязнены лекарственными препаратами синтетического происхождения. Это может негативно сказываться как на самой экосистеме, так и на ее обитателях при миграции загрязнителей по трофическим цепям.

Исследование проведено при финансовой поддержке проекта Минобрнауки РФ в рамках создания лабораторий под руководством молодых ученых при научно – образовательных центрах (проект 075-03-2021-141/4, НОЦ Байкал), Гранта Президента РФ (МК-1245.2021.1.4) а также программе поддержки молодых ученых Иркутского государственного университета.

Поликетидные метаболиты морского гриба *Lopadostoma pouzarii* 168CLC-57.3

О.О. Хмель¹, Е.А. Юрченко², А.Н. Юрченко²

¹Дальневосточный федеральный университет

²Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: khmel.oo@students.dvfu.ru

Из морских грибов ежегодно выделяются уникальные по структуре и биологическому действию соединения, которые не были обнаружены у наземных экоформ, что делает их изучение перспективным направлением получения новых биоактивных вторичных метаболитов [1].

В данной работе изучался гриб *Lopadostoma pouzarii*, ассоциированный с неидентифицированной губкой (остров Чам, Южно-Китайское море, Вьетнам). Грибы рода *Lopadostoma* являются малоизученными [2], а состав их вторичных метаболитов неизвестен.

Из этилацетатного экстракта гриба *Lopadostoma pouzarii* 168CLC-57.3 при помощи хроматографических методов, включая ВЭЖХ, выделены индивидуальные соединения **1–10**, из которых **1**, **2**, **9** и **10** являются новыми (рисунок 1). Брутто-формулы соединений были установлены на основании анализа данных HRESIMS и подтверждены данными спектров ¹³C ЯМР. Химическая структура всех соединений установлена на основании анализа спектров ¹H и ¹³C ЯМР (при помощи экспериментов HSQC, HMBC, COSY). Абсолютные стереоконфигурации лопозанонов А (**1**) и В (**2**) были определены комбинацией метода Мошера и ROESY-экспериментов. Относительная стереохимия соединений **9** и **10** установлена на основании анализа вицинальных КССВ протонов.

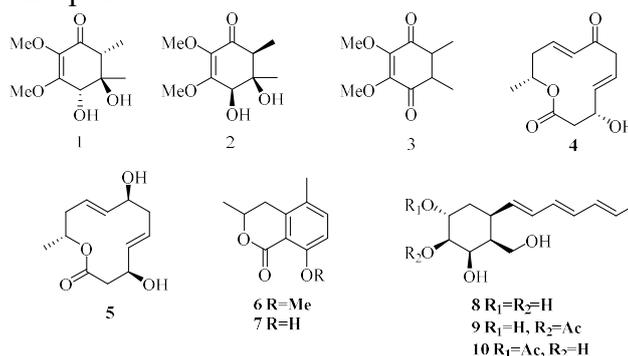


Рисунок 1 – Соединения, выделенные из морского гриба *Lopadostoma pouzarii*

Для соединений **1–5**, **8** и **9** изучена цитотоксическая активность в отношении клеток рака простаты человека (PC-3) и нормальных кардиомиоцитов крысы (H9c2). Соединения проявили умеренную или слабую цитотоксическую активность. Все соединения в концентрации 100 мкМ проявляли одинаковую цитотоксичность для нормальных кардиомиоцитов крыс (H9c2), но ни одно из них не снижало жизнеспособность клеток H9c2 более чем на 42%. В концентрации 10 мкМ все соединения снижали жизнеспособность H9c2 на 3-15%. Соединения **1**, **2**, **5**, **8** и **9** проявляли слабую цитотоксическую активность в отношении клеток рака предстательной железы человека PC-3 и снижали жизнеспособность клеток PC-3 только на 27-32% в концентрации 100 мкМ. Соединения **3** и **4** были более токсичны для клеток PC-3 с ИК₅₀ 58.9 мкМ и 38.9 мкМ соответственно.

Ссылки:

1. Kwon Y.M. et al. // Ocean Sci. J. 2021 V. 56. P.1-17
2. Jaklitsch W.M. et al.// Persoonia: Mol. Phylogeny Evol. Fungi. 2014. V. 32. P. 52-82

Анализ антимикробной активности и синтеза биологически активных соединений термофильного штамма *Streptomyces*

В.Н. Шелковникова, М.Е. Дмитриева, Е.В. Переляев¹, А.Ю. Бельшенко, Д.В. Аксенов-Грибанов
Иркутский государственный университет
Электронная почта: shelkovnikova551@gmail.com

Микроорганизмам, обитающим в экстремальных условиях среды, уделяется особое внимание, т. к. они имеют ряд адаптаций к неблагоприятным условиям, в связи с чем растет их биотехнологический потенциал и возможность выделения биологически активных метаболитов. Это приобретает особую значимость ввиду того, что одной из значимых проблем современного здравоохранения является рост смертности населения от различных заболеваний и поиск новых продуцентов биологически активных веществ.

Целью данного исследования являлась оценка антимикробной активности и синтеза природных соединений термофильного штамма *Streptomyces* 019-1HS. Штамм выделен из байкальской губки *Lubomirskia baikalensis* в результате нагрева при 110°C в течение 2 часов. Далее *Streptomyces* был культивирован при шести температурах (13°C, 28°C, 37°C, 45°C, 55°C и 65°C) в одиннадцати питательных средах, различных по составу. С использованием подходов высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии была проведена оценка синтезируемых соединений штаммом *Streptomyces* при 13°C, 28°C и 37°C. Антимикробная активность была оценена с помощью диско-диффузионного метода для всех температурных условий.

В ходе культивирования при 13°C было обнаружено 279 соединений, при 28°C – 386, а при 37°C – 375. При всех температурных условиях штаммом были синтезированы 87 природных соединений, в т.ч. противоопухолевые средства JBIR 120, Nivelactam, Anguinomycin C и Usabamycin A, противобактериальный агент Albaflavenone.

Исключительно при температуре 13°C штамм синтезировал 111 соединений, большинство которых представлено антибиотиками – Antibiotic INA 2770, Penicillin N, Antibiotic OA 6129E и Herbimycin B. Также было обнаружено соединение Cyclo(leucylprolyl); (3S,8aS)-form с противоопухолевым и противогрибковым эффектами.

Исключительно при температуре 28°C штамм *Streptomyces* синтезировал 158 соединений. Идентифицированные соединения представлены противогрибковыми N-Acetylquestiomycin A и Butyrolactol A, гербицидом Herboxidiene, ингибитором эстеразы Ebelactone B, а также нематоцид и митицид Milbemycin β5.

Особенно стоит отметить, что при температуре 37°C термофильный штамм *Streptomyces* синтезировал 194 соединения, которые не были обнаружены при 13°C и 28°C. Большинство идентифицированных соединений являются антибиотиками – Antibiotic Sch 382583, Antibiotic FL 120B, Antibiotic JI 20B и Antibiotic GEX 1Q3. Также присутствовали фитотоксины Thaxtomin C и Thaxtomin A; 3,3"-Dideoxy, противогрибковые агенты Carbazomycin B и Venturicidin X.

Антимикробная активность была отмечена против роста *Bacillus subtilis* при 28°C, 37°C и 45°C, и *Mycobacterium smegmatis* при 28°C, 37°C, 45°C и 55°C. Более того, при температуре 37°C была зафиксирована антимикробная активность против роста *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida* и *Candida glabrata*.

Исследование проведено при финансовой поддержке проекта Минобрнауки РФ в рамках создания лабораторий под руководством молодых ученых при научно – образовательных центрах (проект 075-03-2021-141/4, НОЦ Байкал), Гранта Президента РФМК-1245.2021.1.4. и Грантов Иркутского государственного университета, направленных на поддержку молодых ученых.

Фукоидан из бурой водоросли *Saccharina bongardiana*; получение и характеристика наночастиц на его основе

Р.А. Шкрабов^{1,2}, Р.В. Усольцева², Н.М. Шевченко², А.Б. Расин², М.И. Кусайкин²,
А.С. Сильченко², С.П. Ермакова²

¹ Дальневосточный федеральный университет

² Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН

Фукоиданы – водорастворимые полисахариды бурых водорослей, локализованные во внеклеточном матриксе, обладающие разнообразной биологической активностью. В настоящее время изучается их иммуностимулирующее, радиопротекторное, противоопухолевое, противовоспалительное, антивирусное действие. Данные полисахариды за счёт низкой токсичности и разнообразной биологической активности являются перспективными соединениями для создания систем доставки лекарственных соединений. Одними из самых распространенных носителей являются наночастицы на основе фукоидана и хитозана.

Целью данной работы является выделение фукоидана из бурой водоросли *Saccharina bongardiana*, определение его структурных особенностей, получение наночастиц на основе выделенного фукоидана и хитозана и исследование их характеристик.

Водорастворимые полисахариды экстрагировали из водоросли раствором разбавленной соляной кислоты, затем фракционировали с помощью анионообменной хроматографии на носителе DEAE-Маcro Prер. Выходы очищенных фракций фукоидана **SbF1** и **SbF2** составили 0,98% и 0,48% соответственно от веса сухой обезжиренной водоросли. По данным анализа моносахаридного состава и содержания сульфатных групп было показано, что фракция **SbF1** является низкосульфатированной и гетерогенной по моносахаридному составу: помимо остатков фукозы он содержит остатки уроновых кислот и небольшие количества остатков галактозы и маннозы, в то время как фукоидан **SbF2** является высокосульфатированным и содержит преимущественно остатки фукозы и небольшое количество галактозы.

Исследование молекулярно-массового распределения наиболее гомогенного по моносахаридному составу и высокосульфатированного фукоидана **SbF2** показало, что его средний молекулярный вес составил 378 кДа ($M_w/M_n = 3$). **SbF2** также был изучен с помощью спектроскопии ЯМР ¹³C. Было показано, что данный полисахарид является 1,3-связанным фуканом, содержащим сульфатные и ацетильные группы.

Наночастицы были получены на основе взаимодействия фукоидана **SbF2** с хитозаном в соотношении 2:1. Были изучены их стабильность, дзета-потенциал и константы связывания. Исследуемые наночастицы были стабильны в течение 12 дней, их средний размер составил 214 нм, а дзета-потенциал – 36,3 мВ. Были исследованы термодинамические параметры связывания фукоидана **SbF2** и хитозана методом изотермической титрационной калориметрии. Показано, что процесс связывания является экзотермическим из-за структурной реорганизации полисахаридов с последующим высвобождением противоионов.

Стендовые доклады

Оценка возможности достоверной идентификации морских природных соединений при помощи различных подходов в масс-спектрометрическом анализе

Н.А. Шевелев^{1,2}, И.Л. Артемьева², Р.С. Попов¹

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

²Дальневосточный федеральный университет

Электронная почта: shevelev_n@bk.ru

Морские организмы являются практически неисчерпаемым источником новых природных соединений, которые зачастую имеют уникальные химические структуры и проявляют разнообразные физиологические активности. На сегодняшний день масс-спектрометрия является одним из наиболее эффективных подходов для анализа таких соединений. Однако следует отметить, что эффективность применения масс-спектрометрического подхода во многом зависит от применяемых методов обработки данных и используемых для идентификации алгоритмов и баз данных. Идентификация известных и аннотация новых метаболитов являются наиболее сложными задачами при масс-спектрометрическом анализе экстрактов морских организмов, поскольку доступные библиотеки масс-спектров не охватывают весь объем изученных морских природных соединений, а использование существующих алгоритмов для идентификации и аннотации зачастую приводит к ошибочным результатам.

В данной работе изучена возможность достоверной идентификации морских природных соединений при помощи ряда подходов с использованием некоторых структурных и масс-спектрометрических баз данных с открытым доступом. В качестве модельных образцов были использованы экстракты голотурии *Eupentacta fraudatrix* и морской звезды *Lethasterias fusca*. Образцы были проанализированы при помощи метода высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрическим детектированием в режиме ионизации электрораспылением [1,2]. Анализ масс-спектрометрических данных и идентификация проводились с помощью программного обеспечения XCMS Online, MZmine, MS-DIAL с использованием различных структурных и масс-спектрометрических баз данных (коллекции масс-спектров GNPS, Metlin, MassBank of North America). Кроме того, была произведена оценка возможности использования существующих алгоритмов с открытым доступом (MetFrag, CSI:FingerID, ZODIAC, CANOPUS) для *de novo* структурной аннотации неизвестных соединений. Полученные результаты указывают на необходимость использования специализированных масс-спектрометрических баз данных и улучшения существующих алгоритмов идентификации и аннотации для успешного применения масс-спектрометрических методов анализа сложных смесей природных соединений.

Ссылки:

1. Popov R.S., Ivanchina N.V., Silchenko A.S., Avilov S.A., Kalinin V.I., Dolmatov I.Y., Stonik V.A., Dmitrenok P.S. // Mar. Drugs. 2017. V. 15. P. 302.
2. Popov R.S., Ivanchina N.V., Kicha A.A., Malyarenko T.V., Dmitrenok P.S. // J. Am. Soc. Mass Spectrom. 2019. V. 30. P. 743–764.

Исследование динамики экспрессии микроРНК в сетчатке крыс при старении и развитии ретинопатии, аналогичной возрастной макулярной дегенерации

А.А. Шкляр¹, Н.Г. Колосова², О.С. Кожевникова²
¹Новосибирский государственный институт
²ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
Электронная почта: shklyarlesh@gmail.com

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) – комплексное нейродегенеративное заболевание, которое становится основной причиной потери центрального зрения людьми старше 60 лет. Развитие ВМД контролируется множеством взаимодействующих генетических и средовых факторов, определяющих форму, скорость прогрессии заболевания. Существенно влияют на эти параметры и эпигенетические механизмы, включая изменения паттернов экспрессии микроРНК, оценка циркулирующего пула которых рассматривается как перспективный подход к ранней диагностике, прогнозу течения и оценке эффективности лечения ВМД. Однако информация о паттернах экспрессии микроРНК в сетчатке на разных стадиях развития ВМД, тем более доклинических, практически отсутствует, а получить её позволяет только использование адекватных биологических моделей. Настоящее исследование выполнено на линии крыс ОХУС (ИЦиГ СО РАН) - уникальной модели преждевременного старения, одним из проявлений которого становится развитие комплекса ключевых признаков ВМД. Его целью явилась оценка изменений экспрессии ряда перспективных с прогностической точки зрения микроРНК (miR-9, miR-27a, miR-34a miR-146a, miR-155) с возрастом в сетчатке крыс Вистар (контроль) и ОХУС при развитии аналогичной ВМД ретинопатии. Экспрессию микроРНК оценивали методом ПЦР в реальном времени. Было выявлено увеличение уровня экспрессии miR-27a в сетчатке крыс ОХУС с возрастом и по мере развития признаков ретинопатии, которое может вносить вклад в развитие признаков ВМД.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ №21-15-00047

Заочные доклады

Влияние введения бактериального и вирусного миметиков на развитие, социальное и индивидуальное поведение мышей линии BTBR

К.А. Айриянц¹, Е.В. Межлумян², А.С. Мутовина^{1,2}, М.М. Колесникова², Ю.А. Рябушкина¹, А.А. Сапронова¹, В.В. Решетников^{1,3}

¹ФИЦ Институт цитологии и генетики, СО РАН

²Новосибирский государственный университет

³Научно-технологический университет «Сирiuс»

Электронная почта: kaayriyants@bionet.nsc.ru

Расстройство аутистического спектра (РАС) – в настоящее время самое распространенные заболевания нейроразвития в развитых странах по оценке ВОЗ; но механизмы его развития до сих пор слабо изучены. Поскольку манифестация РАС, как правило, происходит в ранний период жизни человека, то, предполагается, что внутриутробное развитие и ранний постнатальный период являются критически важными в патофизиологии заболевания. Стрессовые воздействия в этот период, такие как воспаление, могут модулировать последующие нарушения в нервной системе, приводя к манифестации данного расстройства. Кроме того, обширные изменения иммунной функции описаны как у детей, так и у взрослых с РАС, включая нейровоспаление в постмертных образцах головного мозга. Аналогичные данные были получены и для мышей BTBR T+Itpr3tf/J (BTBR), которые представляют собой ценную животную модель РАС, поскольку они не только демонстрируют поведенческие нарушения этого заболевания (стереотепия и нарушенная коммуникация), но и обладают рядом биомаркеров заболевания, в том числе и нарушениями в работе иммунной системы. Однако способность воспалительного стресса влиять на поведение мышей линии BTBR до сих пор не ясна.

Таким образом, целью нашей работы стала оценка влияния индуцированного воспаления в ранний постнатальный период на развитие, социальное и индивидуальное поведение мышей линии BTBR. Животные были подвергнуты воспалительному стрессу в ранний постнатальный период на 3 и 5 дни жизни. Мышам вводили либо отдельно липополисахарид (LPS, 50мкг/кг) или полиинозиновую полицитидиловую кислоту (Poly I:C, 10 мкг/кг), либо их сочетание. На 5 и 8 дни жизни была проведена оценка формирования рефлексов (отрицательный геотаксис, хватательный рефлекс и рефлекс избегания обрыва). Оценка индивидуального и социального поведения была проведена с использованием тестов «Светлая-темная камера» и «Социальное взаимодействие» в ювенильном и подростковом периодах. А стереотипия была оценена в тесте «Закапывание шариков» во взрослом возрасте.

Анализ неонатальных рефлексов выявил задержку в формировании обратного геотаксиса у группы с сочетанным введением LPS и Poly I:C на 5 день и для LPS группы на 8 день жизни, а также хватательного рефлекса на 8 день жизни для Poly I:C группы у самцов относительно контрольной группы. У самок же введение обоих провоспалительных агентов, а также их сочетания приводило к нарушению формирования рефлекса избегания края на 5 день жизни относительно контроля. Введение провоспалительных агентов не изменяло тревожность и социальное поведение животных как в ювенильном, так и в подростковом периоде. При оценке стереотипии во взрослом возрасте мы так же не обнаружили влияния провоспалительных агентов на данный тип поведения.

Таким образом, было выявлено, что воспалительный стресс в ранний постнатальный период приводит к изменению развитию животных в ранний период развития, приводя к его задержке. Однако в нашей работе не было обнаружена влияние введения провоспалительных агентов в более поздний период жизни на оцененные параметры поведения.

Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта FWNR-2022-0002.

Оценка биоразнообразия и анализ антимикробной активности психрофильных бактерий-деструкторов в озере Байкал

Н.А. Имидоева, Е.В. Переляева, М.Е. Дмитриева, В.Н. Шелковникова, А.Ю. Бельшенко, Д.В. Аксенов-Грибанов

Иркутский государственный университет
Электронная почта: natasha-imideva@rambler.ru

Исследования, посвященные возможности микроорганизмов осуществлять процессы биологической деструкции веществ различного происхождения, имеют особую актуальность. Особое значение для таких исследований представляют бактерии – обитатели древних экосистем, например бактерии озера Байкал. Поскольку экосистема озера характеризуется прежде всего низкой температурой воды, микроорганизмы, адаптировавшиеся к таким условиям, являются психрофильными и могут выступать в качестве возможного источника уникальных природных соединений, обладающих различными биомедицинскими эффектами.

В ходе работ проведено выделение психрофильных бактерий-деструкторов с поверхности отходов лесопиления, погруженных в озеро Байкал. Полученные пробы были посеяны газоном на 4 вида различных по составу питательных сред, в том числе на среду Гетчинсона – специфическую для целлюлозоразрушающих бактерий. Выделение чистых культур бактерий происходило в условиях холодильной камеры при температуре +5 °С. Так, было получено 338 бактериальных культур, 128 из которых выделены с питательной среды Гетчинсона, что говорит о том, что данные бактерии, по-видимому, являются бактериями-деструкторами. Идентификацию штаммов проводили посредством амплификации гена 16S рРНК. Обнаружены представители как широко распространенных родов, *Pseudomonas* sp. и *Arthrobacter* sp., так и представители редких родов *Janthinobacterium* sp., *Cryobacterium* sp., *Pseudarthrobacter* sp., *Pseudoclavibacter* sp. Проанализировав литературные данные, установлено, что представители родов *Janthinobacterium*, *Cryobacterium*, *Pseudarthrobacter*, *Arthrobacter*, *Pseudoclavibacter* упоминаются в единичных исследованиях, проводимых в экосистеме оз. Байкал.

Для проведения экстракции и последующего анализа антимикробной активности идентифицированные байкальские штаммы культивировали на питательной среде с добавлением отходов лесопиления - опилок хвойных и лиственных пород. Показано, что данные микроорганизмы представляют большую ценность для биотехнологических разработок и обнаружения новых природных соединений с биологической активностью. В ходе исследования, при визуальном осмотре посевов и оценке роста на питательных средах, содержащих отходы лесопиления, установлено, что штаммы *Pseudomonas* и *Janthinobacterium* способны расти на всех типах сред с различной концентрацией опилок. Напротив, штаммы *Pseudoclavibacter* и *Cryobacterium* не способны к росту с добавлением отходов лесопиления. Анализ антибиотической активности штаммов психрофильных микроорганизмов показал зоны ингибирования только у штаммов, культивируемых на сосновых опилках. Штамм *Pseudomonas* sp. способен к синтезу наибольшего числа антибиотических соединений, т.к. его экстракты ингибировали рост всех тест-культур. Кроме того штаммы *Janthinobacterium* sp., культивируемые на питательной среде, содержащей сосновые опилки, способны ингибировать рост тестовых культур. Такая особенность может свидетельствовать о запуске адаптации данных штаммов к росту на труднодеградируемом сырье.

Исследование проведено при финансовой поддержке проекта Минобрнауки РФ в рамках создания лабораторий под руководством молодых ученых при научно – образовательных центрах (проект 075-03-2021-141/4, НОЦ Байкал) и Гранта Президента РФ (МК-1245.2021.1.4).

Новые фторсодержащие цвиттер-ионные олигонуклеотиды

К.В. Клабенкова^{1,2}, Е.А. Буракова^{1,2}, А.А. Фокина^{1,2}, Д.А. Стеценко^{1,2}¹ Новосибирский государственный университет,² ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН

Электронная почта: k.klabenkova@g.nsu.ru

Химически модифицированные олигонуклеотиды зарекомендовали себя как перспективные терапевтические агенты. Среди химических модификаций олигонуклеотидов наиболее часто используется модификация фосфатной группы в тиофосфатную. Продолжается поиск аналогов фосфатной группы, способных не только обеспечить высокую устойчивость к действию ферментов, но и облегчить проникновение в клетки, например, за счет введения положительно заряженных групп.

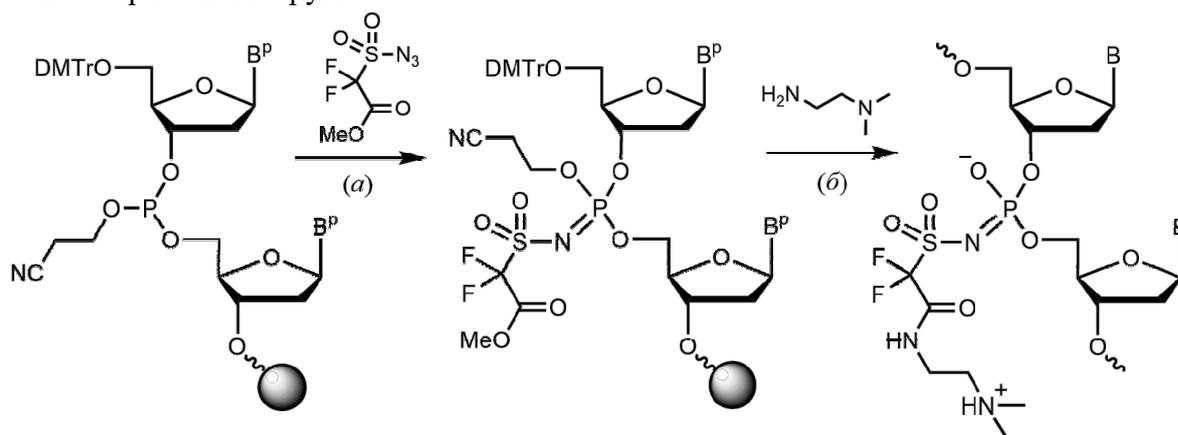


Рисунок 1. Модификация олигонуклеотида фторсодержащими цвиттер-ионными аналогами фосфатной группы.

Ранее было показано, что реакция Штаудингера между сульфонилзидами и межнуклеотидным фосфитом служит удобным способом химической модификации олигонуклеотидов [1–5]. В данной работе для получения новых производных олигонуклеотидов, содержащих цвиттер-ионные группы, была использована новая методика, включающая (а) введение сложноэфирной группы с помощью метил-2,2-дифтор-3-азидосульфонилacetата; и (б) обработку диамином, например, 1,1-диметилэтилендиамином (Рисунок 1). С использованием данной методики был осуществлен синтез модифицированных олигонуклеотидов с 1-5 цвиттер-ионными группами. Оценка термической денатурации дуплексов, образованных модифицированными олигонуклеотидами с комплементарными ДНК и РНК, выявила незначительное влияние фторсодержащих цвиттер-ионных групп на устойчивость полученных комплексов.

Ссылки:

1. Прохорова Д.В. и др. // Биоорг. химия. 2017. Т. 43. С. 45–50.
2. Челобанов Б.П. и др. // Биоорг. химия. 2017. Т. 43. С. 644–649.
3. Burakova E.A. et al. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2019. V. 45. P. 662–668.
4. Miroshnichenko S.K. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2019. V. 116. P. 1229–1234.
5. Derzhalova A. et al. // Appl. Sci. 2021. V. 11. 1174.

Работа поддержана РФФ (грант № 22-13-00212) и Министерством науки и высшего образования РФ (проект Новосибирского государственного университета FSUS-2020-0035).

Влияние индукции раннего постнатального воспаления на показатели крови самцов мышей линий C57Bl/6 и BTBR

Е.В. Межлумян², К.А. Айриянц¹, А.С. Мутовина^{1,2}, М.М. Колесникова², Ю.А. Рябушкина¹, А.А. Сапронова¹, Ю.Н. Хантакова¹, В.В. Решетников^{1,3}

¹ *Институт цитологии и генетики, Сибирское отделение РАН*

² *Новосибирский государственный университет*

³ *Научно-технологический университет «Сирiuс»*

Электронная почта: e.mezhlumyan@g.nsu.ru

Многие психопатологии сопровождаются неправильной работой иммунитета, в том числе и расстройство аутистического спектра (РАС). Эта связь прослеживается на и животных моделях. Так, аберрантный иммунный ответ наблюдается у мышей линии BTBR T+Itpr3tf/J (BTBR), являющихся валидной моделью для изучения РАС. Для линии BTBR было показано, что пересадка костного мозга от мышей высокосоциальной линии C57Bl/6 (B6) изменяет их поведение в сторону большей социальной активности, что указывает на возможную связь работы систем гемопоэза с иммунитетом при патогенезе РАС; но механизмы остаются не ясны. Таким образом, целью работы стала оценка общего уровня воспаления и сравнение показателей крови у мышей линии BTBR и B6 в ювенильном, подростковом и взрослом периодах жизни при индукции воспаления в раннем возрасте.

Самцам мышей линий C57Bl/6 и BTBR вводили бактериальный (липополисахарид LPS, 50 мкг/кг) и вирусный (полиинозиновую:полицитидиловую кислоту Poly I:C, 10 мкг/кг) миметики и их сочетание на 3 и 5 дни жизни. Контрольная группа получала равный объем физиологического раствора. Анализ крови и измерение органного индекса производились у мышей в трех возрастных группах: на 24, 40 и 60 дни жизни.

При анализе веса мы обнаружили, что введение провоспалительных агентов разнонаправлено изменяет набор веса у мышей двух линий: у линии B6 после введения агентов вес повышался только на 3 день, в то время как у BTBR повышался на 3 и снижался в 5, 8 и 16. Кроме того, сравнение органного индекса селезенки показало, что на 24 день жизни после введения агентов этот параметр увеличивался у BTBR по сравнению с C57, а к 40 дню, напротив, индекс был выше у C57 в контрольной группе.

При оценке параметров крови мы не обнаружили эффектов введения провоспалительных препаратов на лейкоциты, но выявили межлинейные различия: число лимфоцитов у BTBR было достоверно ниже на 40 и 60 дни жизни, чем у B6, в то время как количество гранулоцитов в аналогичных возрастных периодах, наоборот, было повышено у мышей линии BTBR относительно B6. Количество гранулоцитов у BTBR повышалось и в 24 день, но только для группы с введением Poly I:C. Кроме того, на 24 день жизни у мышей BTBR с введением вирусного миметика происходил рост числа тромбоцитов и тромбокрит по сравнению с сочетанной группой, а на 40 день значения, наоборот, падали. В этот же день у мышей линии BTBR с введением Poly I:C увеличивалось число эритроцитов, содержание гемоглобина и гематокрит относительно других групп.

Таким образом, мы обнаружили, что введение различных провоспалительных агентов приводит к различным отставленным во времени изменениям параметров крови у животных линий BTBR и B6, причем линия BTBR демонстрирует более сильные и продолжительные реакции.

Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта FWNR-2022-0016.

Влияние острого введения LPS и Poly I:C на экспрессию провоспалительных генов в мозге самцов мышей линии BTBR и C57Bl/6

А.С. Мутовина^{1,2}, К.А. Айриянц², Е.В. Межлумян¹, М.М. Колесникова¹, А.А. Сапронова², Ю.Н. Хантакова², Ю.А. Рябушкина², В.В. Решетников^{2,3}

¹Новосибирский государственный университет

²ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН

³Научно-технологический университет «Сирius»

Электронная почта: a.mutovina@g.nsu.ru

Расстройство аутистического спектра (РАС) — это патология развития нервной системы, характеризующееся нарушением социального поведения и стереотипией. Накопленные данные свидетельствуют о том, что иммунные процессы играют ключевую роль в патофизиологии РАС. Одна из наиболее валидных животных моделей РАС — мыши линии BTBR T +Itpr3tf/J (BTBR) не только демонстрируют аутизм подобный фенотип, но и имеют нарушения в иммунной системе, аналогичные наблюдаемым у пациентов с РАС. Однако иммунный ответ на индуцированное воспаление у этих мышей все еще плохо изучен. Целью данной работы является исследование различий в иммунной функции у взрослых самцов мышей BTBR и C57Bl/6 (B6) (общепринято используются в качестве контроля) после индукции острого вирусного и бактериального воспаления. Мышам линий BTBR и B6 внутрибрюшинно вводили либо липополисахарид (LPS, 50 мкг/кг), либо полиинозин:полицитидиловую кислоту (Poly I:C, 10 мкг/кг), либо их комбинацию. Контрольная группа получала эквивалентные объемы физиологического раствора. Оценка уровня экспрессии *Gfap*, *Aif1* и *Tnfa* в гипоталамусе и префронтальной коре проводили через 2 и 16 часов после инъекции.

Анализ уровня экспрессии гена маркера активации астроцитов — *Gfap* — не показал значительных изменений после индукции воспаления как в гипоталамусе, так и в префронтальной коре. Оценка экспрессии гена *Aif1*, активация которого указывает на активацию микроглии, показала, что введение Poly I:C и сочетанное введение LPS и Poly I:C приводило к увеличению транскрипта данного гена к 16 часам у обеих линий животных. У животных линии B6 увеличение уровня мРНК *Aif1* наблюдалось только в префронтальной коре, в то время как у BTBR и в гипоталамусе, и в префронтальной коре. Уровень мРНК провоспалительного цитокина *Tnfa* увеличивался только после Poly I:C и сочетания LPS и Poly I:C через 2 часа после инъекции у обеих линий животных в гипоталамусе и префронтальной коре, при этом мыши B6 сильнее реагировали на сочетание инфекций, а BTBR на вирусную инфекцию. Таким образом, мы наблюдали изменение активности микроглии и увеличение уровня мРНК провоспалительных цитокинов после индукции острого вирусного воспаления на периферии как у мышей линии B6, так и у мышей BTBR, при этом мыши линии BTBR продемонстрировали большую реактивность иммунной системы.

Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта FWNR-2022-0016.

Качественные и количественные показатели изолятов бактерий *Bacillus subtilis* выделенных из микробиоты диких животных на амилопектин

А.Г. Павлов¹, С.П. Ермакова², А.А. Белик², Н.П. Тарабукина¹, М.П. Неустроев¹

¹Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. М.Г. Сафронова, Федеральный исследовательский центр «Якутский научный центр СО РАН»

²Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: deanonbitard@gmail.com

Изучение бактерий *Bacillus subtilis* является востребованным в силу того, что на их основе создаются пробиотические и ферментативные препараты для использования их в животноводстве [1]. Бактерии данного вида обладают рядом преимуществ – отсутствие токсичности, антагонистические функции против многих патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и выступает в качестве производителя белков, в том числе ферментов. Исследования амилолитической активности 10-ти изолятов бактерий *Bacillus subtilis* (3, 4, 5, 8, 11, 16, 24, 25, 2сп и 5сп), выделенных из микробиоты диких животных на амилопектин проведены на посевах первого, второго, третьего и седьмого дня с использованием растворов Шомоди-Нельсона, показывающие интенсивность восстанавливающих сахаров. В качестве анализа были взяты супернатанты аликвот бактериальных посевов, впоследствии центрифугированные при 4500 об/мин в течение 15 минут.

Качественные исследования показали значительные активности у штаммов 2СП и 5СП, остальные отсеяны из-за низких качественных показателей, дальнейшие количественные исследования производились на этих изолятов, заранее отобранных надосадочных жидкостях, хранившиеся в морозильнике. Супернатанты были разморожены при комнатной температуре. Количественные данные изолятов 2СП и 5СП, представленные на графике 1 показали активности 2,75 ед/мг и 2,67 ед/мг соответственно на 7 день посева.

Кроме изучения супернатантов посевов, которые по ходу исследований показали внеклеточную ферментативную активность, были исследованы внутриклеточные ферменты с помощью ультразвукового дезинтегратора. Активности внутриклеточных ферментов дали аналогичные качественные показатели по сравнению с исследованиями супернатантов у 2СП и 5СП, в отличие того, что в них пропала активность контроль-фермента. Отсутствие активности у контроль-ферментов наталкивает на мысль, что это негативно отразится на ферментативную активность на другие субстраты помимо амилопектина.

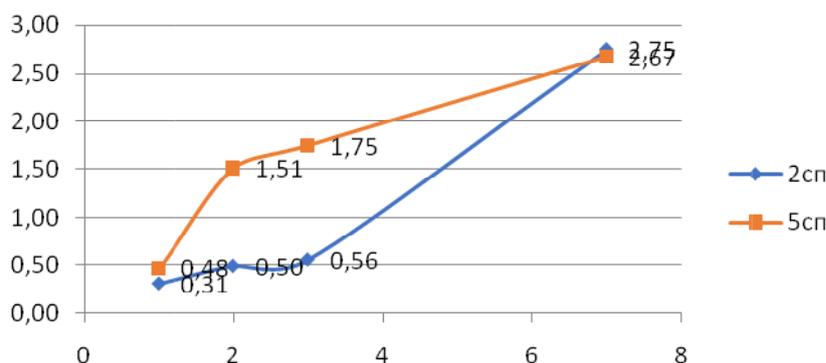


Рисунок 1. Удельная активность лизатов на амилопектин по дням посевов (ед/мг белка).

Ссылки:

1. Su, Y., Liu C., Fang H. // Microb. Cell. Fact. 2020. V. 19. P. 173.

Новые цвиттер-ионные олигонуклеотиды

Д.Э. Патрушев^{1,2}, С.Н. Бизяев^{1,2,3}, Е.А. Буракова^{1,2}, Д.А. Стеценко^{1,2}
¹Новосибирский государственный университет
²ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
³Институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН
 Электронная почта: patrushevde@protonmail.com

Производные нуклеиновых кислот с тиофосфатными межнуклеотидными группами нашли применение в медицине как антисмысловые терапевтические агенты, отличающиеся повышенной устойчивостью к расщеплению ферментами и благоприятной фармакокинетикой за счет аффинности к белкам. Последнее также в ряде случаев приводит к выраженной токсичности, для снижения которой были предложены другие модификации фосфатной группы, например, мезилфосфорамидная [1]. Однако полная замена тиофосфатных групп мезилфосфорамидными понижает сродство к белкам, что вызывает потребность в дополнительных средствах доставки, таких как катионные липосомы [2]. В то же время, антисмысловые олигонуклеотиды, содержащие как мезилфосфорамидные, так и тиофосфатные группы, показали высокую активность [3]. Таким образом, представляется актуальной разработка аналогов фосфатной группы, потенциально способных к связыванию с белками за счет, например, ионных взаимодействий.

Реакция Штаудингера между сульфонилзидами и межнуклеотидным фосфитом выступает подходящим способом получения широкого спектра аналогов олигонуклеотидов, модифицированных по фосфатной группе. В данной работе были получены новые производные ДНК, содержащие цвиттер-ионную 1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-7-сульфонилфосфорамидную (θ) группу (Рисунок 1). Была разработана методика твердофазного синтеза олигонуклеотидов, содержащих от одной до пяти θ -групп, которая позволяет получить высокий выход продукта. Цвиттер-ионные олигонуклеотиды с θ -группами показали термическую устойчивость дуплексов с ДНК и РНК, сравнимую с нативными олигонуклеотидами.

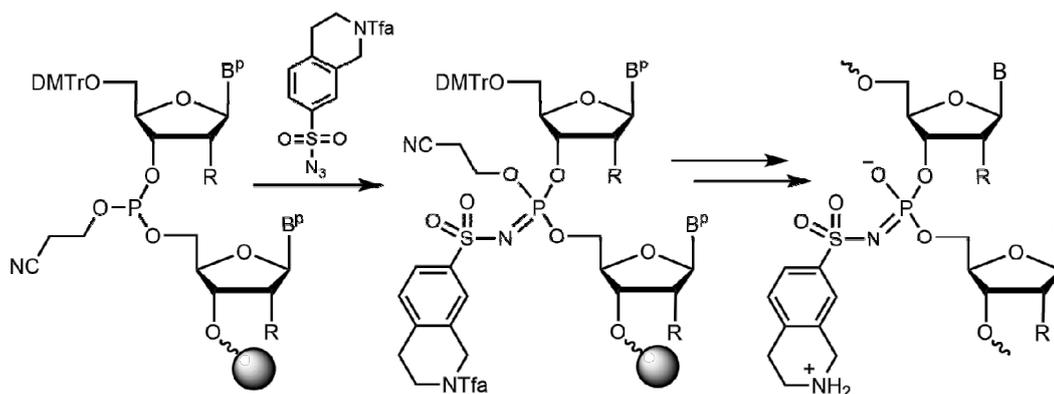


Рисунок 1. Цвиттер-ионные производные олигонуклеотидов с 1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-7-сульфонилфосфорамидной группой (θ). DMTr – 4,4'-диметокситригил, Tfa – трифторацетил.

Работа поддержана РНФ (грант № 22-13-00212) и Министерством науки и высшего образования РФ (проект Новосибирского государственного университета FSUS-2020-0035).

Ссылки:

1. Miroshnichenko S.K. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2019. V. 116. P. 1229–1234.
2. Patutina O.A. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2020. V. 117. P. 32370–32379.
3. Anderson B.A. et al. // Nucleic Acids Res. 2021. V. 49. P. 9026–9041.

Хитин-деградирующие ферменты *Microbulbifer thermotolerans*, выделенной из морской среды

Ю.К. Пентехина^{1,2}, Л.А. Балабанова^{1,2,3}, О.И. Недашковская³, А.Б. Подволоцкая^{1,2},
Л.А. Текутьева^{1,2}

¹Дальневосточный федеральный университет

²R&D центр «Агробиоэкономика», ООО «Арника»

³Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: pentekhina@gmail.com

Хитинолитические бактерии широко распространены в морской среде; они продуцируют ряд хитин-деградирующих ферментов, которые расщепляют хитин, состоящий из звеньев N-ацетилглюкозамина (GlcNAc), связанных β -1,4-гликозидными связями, до хитоолигосахаридов разной степени полимеризации. Такими ферментами являются хитиназы семейств гликозидгидролаз GH18 и GH19; и литические полисахаридмонооксигеназы (LPMO) семейства AA10 согласно классификации CAZy, где хитиназы используют гидролитический механизм для расщепления хитина, тогда как LPMO – окислительный. Морские бактерии, продуцирующие хитинолитические ферменты, являются перспективными для использования в промышленности (производство хитоолигосахаридов), сельском хозяйстве (агенты биоконтроля), медицине и т.д., т.к. обладают уникальными свойствами, к которым относятся солеустойчивость, гипертермостабильность, барофильность и холодоадаптивность, что позволяет их культивировать в различных диапазонах.

Наше исследование сосредоточено на изучении хитинолитического потенциала штамма морской бактерии *Microbulbifer thermotolerans* Sgf 25, который был выделен из гонад морского ежа *Strongylocentrotus intermedius*, б. Троица Японского моря, в сентябре 2009 г и депонирован в Коллекции морских микроорганизмов Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова (КММ). Цель работы заключается в поиске уникальных хитинолитических ферментов или их комплексов и изучение возможности их дальнейшего использования в качестве агентов биоконтроля. Хитинолитическая активность штамма Sgf 25 была выявлена при его культивировании на агаризованной среде в присутствии 0,2% коллоидного хитина. Дополнительно штамм культивировали в жидкой среде LB в течение 3 дней в присутствии субстрата до его полной деградации и анализировали полученный супернатант на хитиназную активность и при помощи SDS-PAGE. В обоих случаях было подтверждено наличие экспрессируемых ферментов штаммом в культуральную среду в ответ на присутствие хитина как индуктора экспрессии. В связи с тем, что хитинолитические ферменты также характеризуются антифунгицидной активностью, *M. thermotolerans* Sgf 25 культивировали в присутствии *A. niger*, однако, подавление роста гриба не наблюдалось. Для детального анализа хитинолитического комплекса Sgf 25, было проведено секвенирование 16S рРНК, последовательность которой показала 100% сходство с *M. thermotolerans* DAU221. Согласно CAZy, в последовательности генома штамма DAU221 закодированы 4 хитиназы (GH18) и 2 LPMO (AA10), на основании которых были сконструированы праймеры для их идентификации в геномной ДНК Sgf 25. Результаты амплификации показали наличие всех представленных генов. На основании этого, следующий этап эксперимента ориентирован на полногеномное секвенирование анализируемого штамма, конструирования экспрессионных векторов и очистки рекомбинантных белков для детального изучения комплекса хитинолитических ферментов.

Ссылки:

1. Keyhani N.O., Roseman S. // Biochim. Bio-phys. Acta. 1999. V. 1473. P. 108–122.
2. Vaaje-Kolstad G., et al. // Febs J. 2013. V. 280. P. 3028–3049.
3. Lee H-J., Lee Y-S., Choi Y-L. // Biotechnol. Biofuels. 2018. 11. 303.

Исследование выполнено за счет Гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации 15.BRK.21.0004 (договор № 075-15-2021-1052).

Создание «молекулярной пломбы» для ингибирования BRAF V600E *in silico*

П.Д Тимкин, М.В. Михайленко, Э.А. Тимофеев, Е.А. Бородин
ФГБВОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России
Электронная почта: timkin.pasha@mail.ru

В данной работе была совершена попытка изучения особенностей молекулярных механизмов опухоли, отвечающих за её выживание. В случае с меланомой одной из драйверных (ведущих) мутаций является BRAF V600E, которая встречается с частотой до 90%. Работа была проведена с использованием виртуальной молекулярной лаборатории Galaxy7TM. Предподготовка и оптимизация полипептидной цепи проходила в программном обеспечении DiscoveryStudio (рис.1). В качестве предполагаемого лиганда была взята аминокислота валин, так как она была заменена в 600-м положении на глутаминовую кислоту. Гипотетически, если вставить в этот участок валин, это позволит избирательно ингибировать BRAF.

В ходе проведённого исследования выяснилось, что валин может успешно образовывать связи в этом участке (рис.2). Однако, для подтверждения его ингибирующих способностей требуется создание новых виртуальных моделей, которые дадут однозначные результаты.

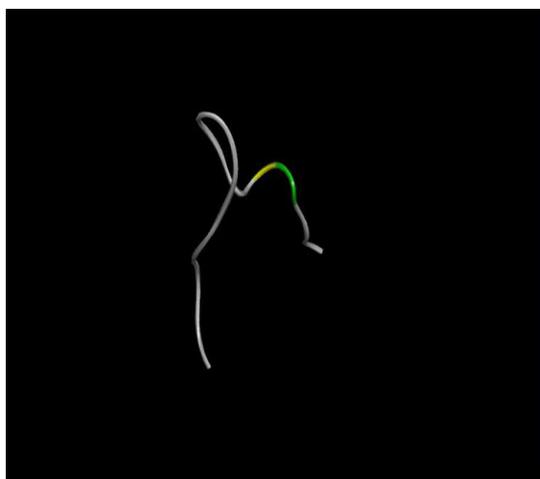


Рисунок 1. Оптимизированная полипептидная цепь в DiscoveryStudio

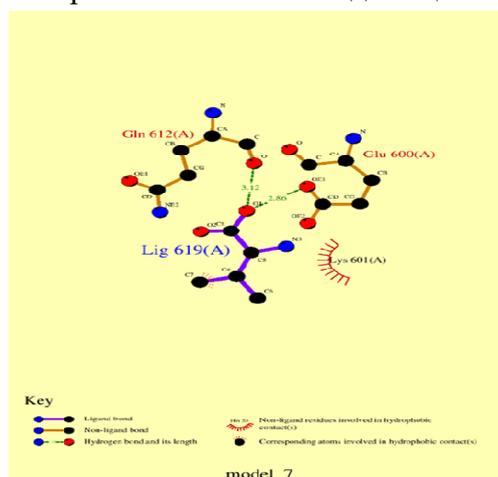


Рисунок 2. Взаимодействие валина с цепью в 600-ом положении

Ссылки:

1. Lee. G. R. and Seok C. // Nucleic Acids Res. 2016. V. 44. P. 502-506.
2. Гордиенко В.П., Товбик Н.А., Клименко Е.В. // Сибирский онкологический журнал. 2016. Том. 15. № 4. С. 14–20.

Взаимодействия лектинов из асцидии *Didemnum ternatanum* с оппортунистическими грибами

А.П. Фильштейн¹, Д.В. Шеховцева², И.В. Чикаловец¹

¹ Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

² Дальневосточный федеральный университет

Электронная почта: alishichka@mail.ru

Среди беспозвоночных асцидии представляют собой филогенетически интересную группу животных, поскольку они считаются эволюционно наиболее близкими к позвоночным, поэтому исследования их защитных механизмов могут дать нам важную информацию об эволюции примитивной врожденной иммунной системы позвоночных [1]. Важным компонентом врожденной иммунной системы беспозвоночных являются лектины. Лектины – широко распространенные белки и гликопротеины, способные специфически и обратимо связывать углеводные структуры. Они нековалентно связываются с моно- и олигосахаридами, как с находящимися в растворе, так и с локализованными на клеточной поверхности. Колониальная асцидия *Didemnum ternatanum* была собрана в южном регионе Тихого океана. Применяя классические методы аффинной хроматографии и гель-фильтрации, из асцидии было выделено два лектина (DTL и DTL-A). DTL является N-ацетилглюкозамин специфичным, металл-независимым лектином с молекулярной массой мономера около 10 кДа. DTL-A, в отличие от DTL, проявляет специфичность как к N-ацетилглюкозамину, так и к N-ацетилгалактозамину и имеет молекулярную массу мономера около 14 кДа. Ранее в лаборатории химии неинфекционного иммунитета ТИБОХ ДВО РАН была установлена бактериостатическая активность DTL и DTL-A. В отличие от антибактериальной активности лектинов, их антифунгальная активность изучена недостаточно, несмотря на то, что составной частью как клеточной стенки бактерий, так и клеточной стенки грибов или гиф, являются сложные гликановые полимеры, такие как хитин, глюканы, маннаны, галактоманнаны, глюкоманнаны, рамноманнаны и фосфоманнаны, состоящие из остатков N - ацетилглюкозамина, глюкозы, маннозы, галактозы и/или рамнозы [2]. Поэтому методом твердофазного лектин-ферментного анализа нами была изучена способность лектинов связываться с грибами и также механизм связывания DTL и DTL-A с грибами. Установлено, что оба лектина способны связываться с *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* и *Penicillium thomii*. При изучении механизма связывания белков с грибами методом ингибирования специфичными гликопротеинами было установлено, что взаимодействие идет по углевод-связывающему домену лектинов. Это объясняется тем, что клеточная стенка некоторых грибов рода *Aspergillus* имеет центральный слой разветвленного β-1,3-глюкана, ковалентно связанного с хитином и галактоманнаном, к которым лектины проявляют специфичность [2].

Для подтверждения полученных данных о связывании лектинов с грибами был, дополнительно, проведен эксперимент по агглютинации грибов лектинам. Оба лектина агглютинируют грибы рода *Aspergillus* и *Penicillium*, плотно связывая их в агрегаты. Исходя из полученных результатов о высокой активности лектинов к широко распространённому, условно-патогенному роду грибов *Aspergillus*, можно предположить, что DTL и DTL-A являются перспективными объектами для изучения и применения в качестве противогрибковых агентов как в промышленности, так и в медицине.

Ссылки:

1. Garcia-Maldonado E., Cano-Sanchez P., Hernandez-Santoyo A. // Fish Shellfish Immun. 2017. V. 66. P. 564-574.
2. Doering T., Cummings R., Aebi M. // Cold Spring Harbor (NY). 2017. Chapter 23.

**Структурно-функциональные особенности и биологическая активность лектина из мидии
*Mytilus trossulus***

А. П. Фильштейн, В. И. Молчанова, О. В. Черников, И. В. Чикаловец
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН
Электронная почта: alishichka@mail.ru

Лектины — углевод-связывающие белки, обладающие свойством обратимо и избирательно связывать углеводы, не вызывая их химического превращения. Лектины широко распространены в биологическом мире. В последние годы пристальное внимание исследователей привлекают лектины из морских беспозвоночных. Они проявляют ряд важных функций и активностей, благодаря своей способности к избирательному связыванию углеводных лигандов [1].

Ранее в лаборатории химии неинфекционного иммунитета ТИБОХ ДВО РАН был выделен и охарактеризован Gal/GalNAc – специфичный лектин из мантии мидии *Mytilus trossulus* (MTL) [2]. Методами молекулярной биологии и молекулярного моделирования нами была исследована структура MTL. Опираясь на гомологию первичной структуры и углевод-связывающего сайта установлено, что лектин является еще одним членом нового семейства митилектинов. Третичная структура MTL имеет форму β -трилистника, известно, что такие структуры способны к образованию димерной структуры за счет внутренней симметрии молекулы. Анализ аминокислотных последовательностей MTL и других лектинов семейства митилектинов указал на наличие аминокислот в структуре MTL, отвечающих за димеризацию белка. Данные о димеризации MTL были подтверждены экспериментальным путем, так по данным динамического рассеяния света и электрофореза, установлено, что при увеличении концентрации MTL или времени его экспозиции происходит димеризация лектина, с последующей его олигомеризацией. Это может придать поливалентность молекуле MTL, которая имеет решающее значение для нескольких биологических свойств лектина, например, для агглютинации.

Изучение роли MTL в организме мидии и его биологическую активность проводили иммунодиагностическими методами. Установлено, что лектин относится к группе паттерн-распознающих рецепторов, взаимодействуя с известными ПАМП, а так же участвует в защите организма мидии от вторжения чужеродных агентов. Показана бактериостатическая и фунгиостатическая активность MTL по отношению к условно-патогенным микроорганизмам. В последнее десятилетие было продемонстрировано немало доказательств участия лектинов в иммунологических реакциях. Транскрипты мРНК почти всех лектинов морских беспозвоночных увеличиваются после стимуляции патогенами или ПАМП, что указывает на их участие в процессе иммунной регуляции [3]. При изучении влияния MTL на спонтанную и индуцированную продукцию клетками крови человека провоспалительных (TNF- α и IFN- γ) и противовоспалительного (IL-10) цитокинов было показано иммуностимулирующее и иммуномодулирующее действие лектина.

Ссылки:

1. Suzuki T., Mori K. // Comp. Biochem. Physiol. 1989. V. 3. P. 455-462.
2. Chikalovets I. et al. // Fish Shellfish Immunol. 2016. V. 50. P. 27–33.
3. Wang W., Song X., Wang L., Song L. // Int. J. Mol. Sci. 2018. V. 19(3). P. 721.

Информация о компании «Хеликон»

ООО «Компания Хеликон» — с 1997 года один из ведущих российских поставщиков продукции и услуг для лабораторий, работающих в сферах фундаментальных научных исследований, биоиндустрии, клинической диагностики, криминалистики, ветеринарии и пищевой безопасности.

Направления деятельности Компании:

- Продажи оборудования, реагентов и расходных материалов для молекулярно-биологических, биотехнологически и клеточных исследований.
- Сервисная и методическая поддержка.

Компания Хеликон также имеет собственную производственную базу и выпускает продукцию под маркой «Helicon»: магнитные и лабораторные штативы, оборудование и комплектующие для электрофореза, системы гель-документирования, специализированную лабораторную мебель и др.

Наличие развитой логистической и складской сети позволяет доставлять заказы в кратчайшие сроки. Региональные представительства компании находятся в Санкт-Петербурге, Новосибирске, Казани, Ростове-на-Дону, Воронеже, Екатеринбурге и Владивостоке.

Контакты:

ООО «Компания Хеликон»

121374, Москва, Кутузовский проспект, д. 88

8 800 770 71 21 (звонки с любых телефонов РФ бесплатны)

+7 499 705 50 50 (в Москве)

E-mail: mail@helicon.ru

Офис во Владивостоке:

690021, Владивосток, ул. Запорожская, 77, к. 341

+7 914 720 55 63

E-mail: m.tsvirka@helicon.ru

Web: www.helicon.ru

Telegram: <https://t.me/HeliconCompany>

VK: <https://vk.com/helicon.company>

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Айриянец К.А.	41, 44, 45	Колесникова М.М.	41, 44, 45
Аксенов-Грибанов Д.В.	33, 35, 42	Колосова Н.Г.	39
Аминин Д.Л.	8, 32	Комышев Е.Г.	20
Ануфриев В.Ф.	19	Константинов М.А.	22
Артемьева И.Л.	38	Короткова А.М.	20
Арчаков А.И.	10	Кочетов А.В.	18
Афошин А.С.	22	Коэпфель И.	18, 20
Бакунина И.Ю.	31	Крылова Н.В.	32
Балабанова Л.А.	48	Кудрякова И.В.	22
Белик А.А.	46	Кузнецов А.С.	23
Бельшенко А.Ю.	42	Кумлен Й.	18, 20
Бельшенко Д.В.	35	Курбанова А.С.	24
Бизяев С.Н.	11, 47	Кусайкин М.И.	36
Боркунов Г.В.	15	Куфтина Д.Д.	25
Бородин Е.А.	49	Лещенко Е.В.	15
Борщевский В.И.	9	Лихацкая Г.Н.	17
Буракова Е.А.	11, 43, 47	Маханьков В.В.	19
Бусов И.Д.	20	Машнев Б.П.	19
Варакса Т.А.	9	Межлумян Е.В.	41, 44, 45
Васильева Е.А.	16	Мезенцев Ю.В.	10, 21
Васильева Н.В.	22	Менчинская Е.С.	32
Вихорев А.В.	20	Михайленко М.В.	49
Власова А.А.	33	Мищенко Н.П.	16
Володько А.В.	30	Молчанова В.И.	51
Генаев М.А.	20	Моргунова М.М.	33
Герасимова С.В.	18, 20	Мутовина А.С.	41, 44, 45
Гилеп А.А.	9, 21	Муханова М.А.	26
Гнеденко О.В.	10, 21	Недашковская О.И.	48
Гребенкин П.В.	17	Нестеренко Л.Е.	27
Держалова А.Ш.	11	Неустроев М.П.	46
Дмитриева М.Е.	35, 42	Павлов А.Г.	46
Домрачев Д.	18	Панина И.С.	28
Егорова А.А.	18, 20	Патрушев Д.Э.	11, 47
Ермакова С.П.	31, 36, 46	Пентехина Ю.К.	48
Ершов П.В.	21	Переляева Е.В.	35, 42
Ефремов Р.Г.	23, 28	Пислягин Е.А.	32
Закирова А.Е.	19	Плеканчук В.С.	29
Зыкова Т.Е.	20	Подволоцкая А.Б.	48
Иванов А.С.	10, 21	Попов Р.С.	19, 38
Имидоева Н.А.	42	Похило Н.Д.	31
Иунихина О.В.	32	Прокудина О.И.	29
Калужский Л.А.	10, 21	Расин А.Б.	36
Карпуть Е.Ю.	9	Решетников В.В.	41, 44, 45
Кисель М.С.	9	Рогозина Е.	18
Клабенкова К.В.	11, 43	Рябушкина Ю.А.	41, 44, 45
Кожевникова О.С.	39	Рязанова М.А.	29

XIX Всероссийская молодежная школа-конференция по актуальным проблемам химии и биологии

Сабоиев И.А.	18	Яблоков Е.О.	10, 21
Сабуцкий Ю.Е.	17		
Салина Е.А.	18		
Сапронова А.А.	14, 44, 45		
Сильченко Александра Сергеевна	25		
Сильченко Артем Сергеевич	36		
Слабко О.Ю.	24		
Сон Э.Ю.	30		
Старновская С.С.	31		
Стеценко Д.А.	11, 43, 47		
Струшкевич Н.В.	9		
Стрыгина К.В.	20		
Тальдаев А.Х.	28		
Тарабукина Н.П.	46		
Тарбеева Д.В.	31, 32		
Текутьева Л.А.	48		
Тельнова Т.Ю.	33		
Тимкин П.Д.	49		
Тимофеев Э.А.	49		
Торопыгин И.Ю.	12, 22		
Тоцкий И.В.	26		
Усольцева Р.В.	36		
Федорев С.А.	13, 16, 31, 32		
Фильштейн А.П.	50, 51		
Фокина А.А.	11, 43		
Хантакова Ю.Н.	44, 45		
Хертиг К.	18, 20		
Хикель Ш.	18, 20		
Хлесткина Е.К.	20		
Хмель О.О.	34		
Чалая Н.	18		
Чамас С.	18		
Черников О.В.	51		
Чикаловец И.В.	50, 51		
Чугунов А.О.	28		
Шашкина С.С.	33		
Шевелев Н.А.	38		
Шевченко Н.М.	36		
Шелковникова В.Н.	35, 42		
Шеховцева Д.В.	50		
Шкель Т.В.	21		
Шкляр А.А.	39		
Шкрабов Р.А.	31, 36		
Шоева О.Ю.	20, 26		
Щелканов М.Ю.	32		
Юрченко А.Н.	34		
Юрченко Е.А.	27, 34		