

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ДАЛЬНЕВОСТОЧНОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

ТИХООКЕАНСКИЙ ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
НОЦ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ МОРСКОЙ БИОТЫ ДВГУ

**X МЕЖДУНАРОДНАЯ МОЛОДЕЖНАЯ
ШКОЛА-КОНФЕРЕНЦИЯ
ПО АКТУАЛЬНЫМ ПРОБЛЕМАМ ХИМИИ И БИОЛОГИИ**

**МЭС ТИБОХ
ВЛАДИВОСТОК**

12-19 сентября

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

**Владивосток
ДВО РАН
2006**

X Международная молодежная Школа-конференция по актуальным проблемам химии и биологии, МЭС ТИБОХ, Владивосток 12-19 сентября 2006 г.: Тезисы докладов. – Владивосток: ДВО РАН, 2006. с.

В сборнике представлены тезисы устных и стендовых докладов студентов, аспирантов и молодых ученых, участников X Международной Молодежной Школы-конференции по актуальным проблемам химии и биологии. Отражены результаты научных работ по приоритетным направлениям химии, биологии, прикладной биологии, экологии и медицины.

Для студентов, аспирантов, научных сотрудников и специалистов в области химии и биологии.

Оргкомитет молодежной школы-конференции

Председатель: член-корр. РАН В.Е. Васьковский

Члены оргкомитета: д.б.н. А.Л. Дроздов, к.б.н. М.И. Кусайкин, к.б.н. Ю.В. Бурцева,

И.А. Василенко, Н.Е. Кузнецова, О.И. Ивчук

Редакционная коллегия: В.Е. Васьковский, М.И. Кусайкин, Н.Е. Кузнецова,

О.И. Ивчук

Биологическая активность производных нафтохинона

Е.В. Авраменко¹, А.Я. Якубовская², Н.Д. Похило², Д.Л. Аминин²

¹Дальневосточный государственный университет

²Тихоокеанский институт биоорганической химии, ДВО РАН

Электронная почта: scorpion298@yandex.ru

Целью работы являлось изучение биологической активности ряда природных и синтетических хиноидных соединений: 2,3-дихлорнафтазарин, 2,3-диазиднафтазарин, 2-гидрокси-6,7-дихлорнафтазарин, 6,7-дiazид-2-гидроксинафтазарин, 2,3,6-трихлорнафтазарин, 2,3,6-триазиднафтазарин, 2,3,6-трихлор-7-этил-нафтазарин, 2,3,6-триазид-7-этил-нафтазарин, 6-азид-2-гидрокси-7-хлор-3-этилнафтазарин, 2-метокси-6,7-дихлор-3-этилнафтазарин, 6,7-дихлор-3-этил-2-этокси-нафтазарин, 6-азид-7-хлор-3-этил-2-этокси-нафтазарин. Известно, что некоторые из них обладают рядом физиологических эффектов, однако систематического исследования связи между химической структурой и активностью не проводилось.

В работе применялись методы флуоресцентной спектроскопии и анализа флуоресцентного изображения клеток с использованием молекулярных флуоресцентных зондов. В качестве тест-объектов использовали лимфоциты селезенки и перитонеальные макрофаги мышей. Исследовали влияние соединений на активность лизосом и неспецифической эстеразы, внутриклеточную концентрацию кальция и формирование активных форм кислорода. Кроме того, определяли цитотоксические свойства. Эффективные ингибирующие концентрации (EC_{50}), средние значения и стандартная ошибка эксперимента рассчитывались графически с помощью компьютерной программы SigmaPlot 3.02 (Jandel Corporation, США).

В результате проведенной экспериментальной работы было показано, что некоторые из изученных соединений обладают токсическими свойствами, проявляющимися в нарушении жизнедеятельности соматических клеток и ингибировании активности цитоплазматических ферментов. Так, максимальным цитотоксическим эффектом обладает 2,3,6-триазид-7-этил-нафтазарин. Исследуя активность неспецифической эстеразы, мы установили, что максимальным ингибирующим эффектом обладает 2-гидрокси-6,7-дихлорнафтазарин.

Кроме того, целый ряд соединений обладает способностью активировать иммунокомпетентные клетки и стимулировать в них некоторые внутриклеточные процессы. При определении лизосомальной активности мышинных перитонеальных макрофагов было показано, что максимальный стимулирующий эффект проявляет 6,7-дихлор-3-этил-2-этокси-нафтазарин. Изучая формирование активных форм кислорода в мышинных перитонеальных макрофагах мы установили, что наибольший стимулирующий эффект проявляет 6-азид-7-хлор-3-этил-2-этокси-нафтазарин. При определении внутриклеточной концентрации Ca^{2+} было обнаружено, что максимальный стимулирующий эффект проявляет 2,3-диазиднафтазарин.

Таким образом, исследуемые соединения проявляют разнообразную биологическую активность, влияя на внутриклеточные физиологические процессы клеток теплокровных животных. Дальнейшее исследование связи химическая структура – биологическая активность позволит установить закономерности в проявлении биологических свойств и проводить целенаправленный синтез соединений с заданными свойствами.

Работа выполнена при поддержке фонда CRDF (грант VL-003-1X).

**Культивирование пресноводной водоросли *Synedra acus* в
100-литровом фотобиореакторе**

Т.Н.Башарина, Т.А.Сафонова, О.Ю.Глызина

Лимнологический институт Сибирского отделения РАН

Электронная почта: fototanya@mail.ru

Вариант пресноводной диатомовой пеннатной бесшовной водоросли *Synedra acus var. radians* (Kütz) Hust. является планктонным видом и превалирует в фитопланктоне практически любого пресного водоема. Этот вид продуцирует биомассу при температурах от +4 до +16 °С, не требует экзотической среды, культура, выращенная из одной клетки, может прожить до 8-10 лет. Поэтому эти диатомеи были выбраны для крупномасштабного культивирования в фотобиореакторе. Целью работы было создание пилотной установки для получения биомассы *S. acus* в количествах, достаточных для исследования выделенных из нее биологически активных веществ и чистого кремнезема. Возможность крупномасштабного культивирования диатомей создает перспективу внедрения инновационных биотехнологий, ведущих к получению рекомбинантных белков (принимающих участие в полимеризации аморфного кремния для нанотехнологий), биологически активных полиненасыщенных жирных кислот, особо чистого кремнезема, биохимикатов на базе чистых стабильных изотопов углерода и азота. Исходная культура *Synedra acus* выделена в 2003 году из планктона южной котловины Байкала. Для выращивания в фотобиореакторе отбирали интенсивно развивающуюся культуру. Оптимальные условия выращивания были определены экспериментально. Важными критериями роста стали постоянная температура (12 °С), pH 7,5, интенсивность света 9 – 15 $\mu\text{Einsteins/m}^2\text{s}$, маломинерализованная питательная среда DM. Рост культуры клеток водоросли происходит как в толще воды, так и на стенках фотобиореактора. Средняя скорость деления составила 2,5 сут⁻¹. Наблюдение за клетками в фотобиореакторе показало их сильную склонность к агломерации. Интенсивное перемешивание, приводящее к разобщению клеточных скоплений, значительно замедляет скорость деления культуры. Биомасса в фотобиореакторе растет за счет бесполого размножения.

Технологии культивирования *Synedra acus* в опытном фотобиореакторе позволяет получать до 20 г биомассы в неделю. Из полученной биомассы были выделены полиненасыщенные жирные кислоты, белки, генетический материал и сверхчистый кремнезем, приближающийся по качеству к стандартам ЮТА.

Работа выполнена при поддержке госконтракта № 02.434.11.3021

Исследование влияния пестицидов на бактериальную биолюминесцентную биферментную систему

Н. Н. Белосков, В.А. Кратасюк, Е.В. Ветрова
Институт Биофизики сибирское отделение РАН
Красноярский Государственный университет
Электронная почта: beloskov@yandex.ru

Пестициды биологически активные вещества или препараты, включающие один или более веществ с широким интервалом биологической активности и часто со специфическим способом действия. Тонны пестицидов производятся и используются каждый год для контроля паразитов в сельском хозяйстве и садоводстве. Пестициды и другие органические поллютанты обнаруживаются в пробах воды на уровне мкг/л. Поэтому совместное использование хим.анализа и методов, которые позволяют оценить биологический эффект, такие как тесты на токсичность, рекомендованы санитарными службами для установления риска действия пестицидов. Сегодня наиболее перспективным для оценивания токсичности поллютантов является биолюминесцентные биотесты. Однако, нужно отметить, что биотесты должны применяться с пониманием ограничений в применимости, т.е. обоснованностью определенного интервала параметров, определенной группой химикатов или способе действия.

Цель работы - изучить чувствительность биолюминесцентной биферментной системы к влиянию пестицидов.

В работе исследовано влияние гербицидов (анкор 85, фозат) и инсектицидов (фуфанон, фитоверм, фастак, клипер, каратэ, децис, акарин, актеллик) на биолюминесценцию биферментной системы. Показано, что гербициды (органофосфоры) не оказывают влияния на биолюминесценцию, т.е. интенсивность свечения системы в их присутствии не меняется. В то время как при влиянии инсектицидов перитроидной природы с ростом концентрации наблюдали ингибирование биолюминесценции. Эффективность воздействия инсектицидов на БЛ систему характеризовали параметрами LD_{50} , LD_{80} и коэффициентом ингибирования (K_i). Показано, что максимальная эффективность влияния характерна для клипера и фастака ($K_i=0,13 \text{ (мг/л)}^{-1}$) и минимальная для фуфанона ($K_i=0,008 \text{ (мг/л)}^{-1}$) Проведено сравнение параметров LD_{50} и LD_{80} с соответствующими значениями ПДК веществ в воде. Показано, что значения LD_{50} и LD_{80} выше, чем соответствующие значения ПДК. Таким образом, биолюминесцентная биферментная система чувствительна к действию указанных пестицидов, но ее чувствительность недостаточна для тестирования указанных пестицидов на уровне ПДК. Поэтому необходимо увеличивать чувствительность биолюминесцентной системы для тестирования пестицидов в окружающей среде.

Микологическая индикация аэротехногенного загрязнения городской среды

О.В. Березина, Н.Г. Куимова

Институт геологии и природопользования, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: garden@ascnet.ru

Городские экосистемы – особые биогеохимические системы, которые занимают около 1,5% всей площади земного шара, в которых сосредоточено почти 50% мирового населения. Производственная, хозяйственная и бытовая деятельность человека часто сопровождается ухудшением состояния окружающей среды и опасным воздействием на здоровье человека. Снеговой покров, как один из компонентов внешней среды города определяет микробиологический состав воздушной среды и степень ежегодного привноса тяжелых металлов и других токсикантов в городские почвы. Наиболее устойчивыми к воздействию токсикантов, в том числе к тяжелым металлам, являются микроскопические грибы. Установлено присутствие токсичных видов почвенных сапротрофных грибов в экосистемах с разным уровнем техногенной нагрузки (Марфенина и др., 1996); Свистова и др., 2003). Целью выполненных исследований явилось изучение структуры комплекса микромицетов и химического состава снегового покрова в г. Благовещенске и сравнение этих показателей с фоновыми. Отбор проб снега проводили 03.03.06 г. в наиболее напряженных участках городской территории: кольцевая автомагистраль в 1-ом микрорайоне (М) в 3-5 м от дороги; район ТЭЦ (Т) в 50-100 м; в местах отдыха населения – городской (ПГ) и Первомайский парки (ПП). В качестве фона выбрана заповедная территория «Мухинка» (Ф), расположенная в 40 км к северу от города на берегу реки Зея.

Результаты исследований

Состав комплекса микромицетов в городских условиях определяется специфическими экологическими условиями: повышенные температуры, слабощелочная реакция среды (рН 7,5-7,97). Подщелачивание среды связано, по-видимому, с растворением оксидов тяжелых металлов (ТМ), а также карбонатов кальция и магния, которые составляют значительную часть пылевых выбросов. По содержанию ТМ в снеговых водах (мкг/дм³) можно составить следующий ряд: Fe (5,0-110,0) > Mn (21,0-83,0) > Cd (0,15-16,0) > Cu (0,4-12,0) > Ni (3,3-11,0) > Zn (1,1-6,8) > Pb (2,3-6,0) > Co (1,8-3,5) > Cr (0,25-2,0).

Средняя численность (КОЕ/мл) микроскопических грибов на территории города значительно ниже (в 10-100 раз), чем бактерий и существенно не отличается от фона: ПП(37), М(32), ПГ(30), Ф(28), за исключением района ТЭЦ(70). Однако анализ видового состава показал *увеличение биоразнообразия* грибов на территории города с наибольшей техногенной нагрузкой. В воздушной среде и снеговом покрове в 50-100 м от ТЭЦ, где установлены максимальные концентрации Cd, Zn, Mn, присутствуют представители рр. *Aspergillus* sp. (58%), *Penicillium* sp. (20%), *Mucor* sp. (6%), *Cladosporium* sp. (4%), *Alternaria* sp. (4%), *Mycelium sterilia* (8%). Преобладающими являются *A.niger*, *A. fumigatus*, относящиеся к условно-патогенным видам. В районе автомагистрали выделены представители практически тех же родов, однако состав доминантов изменился: *Cladosporium* sp. (32%), *Mucor* sp. (29%), *Penicillium* sp. (18%), *Alternaria* sp. (9%), *Aspergillus* sp. (7%), *Mycelium sterilia* (5%). В снеговом покрове на участке автомагистрали установлено увеличение обилия темноокрашенных, токсинообразующих форм грибов (*C. cladosporioides*, *A. alternata*), резистентных к высокому содержанию Pb, Cu, Zn в снеговой воде. В снеговом покрове парков (ПП, ПГ) и фоновой территории преобладают: *Mucor* sp., *Penicillium* sp, *Trichoderma* sp. Таким образом, в снеговом покрове на городской территории установлено присутствие токсинообразующих и условно-патогенных видов микромицетов. При анализе техногенного загрязнения экосистем индикаторными показателями могут быть: состав доминантов, типичных и редких видов, их уровень присутствия (обилие).

Литература

1. Марфенина О.Е., Каравайко Н.М., Иванова А.Е. // Микробиология. 1996. Т. 65, № 1. С. 119-124.
2. Свистова И.Д., Щербаков А.П., Корецкая И.И., Талалайко Н.Н. // Гигиена и санитария. 2003. №5.

Разработка лекарственного препарата ингибитора протеаз с использованием методов протеомики и биоинформатики

Е.С. Борзенко, А.А. Горин, С.В. Аникин

Кафедра биохимии,

Амурская государственная медицинская академия

Протеолиз – гидролитический распад (катаболизм) белков, катализируемый ферментами, получившими название протеаз. Протеолиз – фундаментальный и высокоспецифичный процесс, непосредственно связанный с функционированием системы гемостаза, ангиогенезом (ростом сосудов), делением и пролиферацией клеток. Нарушение протеолиза и пространственно – временных процессов экспрессии протеаз играют важнейшую роль в развитии типовых патологических процессов (воспаление, лихорадка) и различных заболеваний – острый панкреатолитис, ДВС – синдром, так как многие плазменные факторы свертывания крови по природе являются протеазами. Регуляция протеолиза и защита от него являются актуальными проблемами современной медицины, наиболее эффективным решением, которых является создание нового высокоэффективного препарата – ингибитора протеаз на основе соевого ингибитора протеаз, так как минимизируется спектр побочных эффектов, в связи с растительной природой субстрата. Наибольшее значение в организме имеют сериновые протеазы, название семейства происходит из структуры каталитического центра, общего для всего семейства – Ser – 195, His – 57, Asp – 102. Соевый ингибитор протеаз наиболее эффективен в отношении именно сериновых протеаз, что было обнаружено с помощью поиска природных гомологов соевого ингибитора протеаз, с использованием технологий биоинформатики. С помощью Protein Data Bank и компьютерных программ BLAST и PSI BLAST, строящих выравнивание аминокислотных последовательностей, было обнаружено, что гомология соевого ингибитора протеаз и ингибитора трипсина поджелудочной железы по системе CATH и SSAP – алгоритму составляет 88,22 балла по сто балльной шкале. Гомология с α 1-антитрипсином сыворотки крови составляет 65 баллов. Биоинформационный подход был применен и к анализу гомологии мишеней ингибитора – протеолитическим ферментам. Что важно для выяснения универсальности препарата, высокая степень гомологии была выявлена между трипсином, химотрипсином, эластазой, тромбином, катепсином D, все эти ферменты принадлежат к семейству сериновых протеаз. Экспериментальные исследования достоверно подтверждают полученные теоретические данные. Так в эксперименте, где соевый ингибитор протеаз принимался здоровыми людьми в виде соевых молочных коктейлей достоверно происходит снижение общей протеолитической активности сыворотки крови с 0.287 ± 0.022 до 0.226 ± 0.019 Е/л, согласующееся со всасыванием ингибитора трипсина из ЖКТ. Снижение протеолитической активности сыворотки крови коррелирует с увеличением содержания общего белка с 71.1 ± 1.56 до 76.8 ± 1.52 г/л ($p < 0.02$). Показано эффективное влияние соевого ингибитора протеаз на гемостаз *in vitro*: при добавлении к плазме крови раствора трипсина в конечной концентрации 0,01% все исследуемые показатели уменьшались в 1,5-2 раза, отражая возрастание скорости свертывания крови под влиянием экзогенного трипсина. При добавлении к плазме крови соевого ингибитора трипсина в конечной концентрации 0,1% эти показатели, напротив, возрастали в 1,5-3 раза, свидетельствуя о замедлении свертывания крови под влиянием экзогенного ингибитора сериновых протеаз.

Строение полиядерных комплексов таллия(I) с циклическими диалкилдитиокарбаматными лигандами

О.А. Бредюк

Институт геологии и природопользования, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: oxabreduk@rambler.ru

Интерес к диалкилдитиокарбаматным (Dtc) комплексам таллия(I) обусловлен возможностью получения различного рода полиядерных структур. Ранее^{1,2} нами были исследованы комплексы Tl(I) с алкилксантогенатными и диалкилзамещенными Dtc лигандами. Целью настоящей работы явилось получение и исследование строения полиядерных комплексов Tl(I) с Dtc лигандами циклического строения.

Структуры комплексов общего состава $[Tl_2(S_2CNR_2)_2]_n$ (комплекс I - $R_2 = (CH_2)_5$, II - $(CH_2)_6$) были разрешены по данным РСА. Основным структурным фрагментом N,N-циклопентаметил- и N,N-цикло-гексаметилендितिокарбаматных комплексов таллия(I) являются биядерные молекулы $[Tl_2\{S_2CNR_2\}_2]$ (рис. 1а). Для последних характерно октаэдрическое строение с вершинным расположением двух атомов таллия и четырьмя атомами серы в экваториальной плоскости. В димерных фрагментах каждый атом металла координирует все четыре атома серы. Вследствие высоких значений координационных чисел характерных для таллия(I) в дитиокарбаматных комплексах (КЧ = 5, 6, 7) биядерные молекулы, за счет дополнительных связей Tl-S, объединяются в зигзагообразные полимерные цепи, которые, в свою очередь формируют слои (рис. 1б).

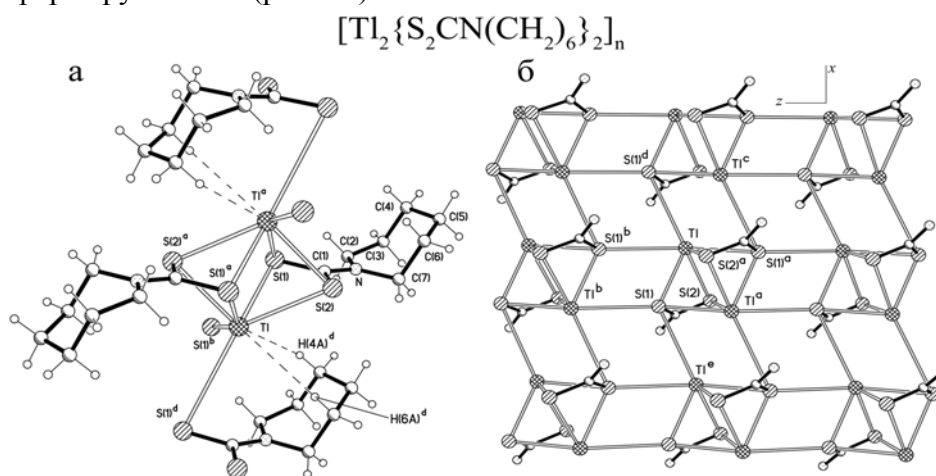


Рис. 1. Структура комплекса II, $[Tl_2\{S_2CN(CH_2)_6\}_2]_n$: а) фрагмент полиядерной цепи; б) проекция полимерного слоя на плоскость xz .

Несмотря на одинаковый тип структурной организации полученных дитиокарбаматов таллия(I), между ними отмечается ряд существенных различий. Так в комплексе II отмечается высокая степень структурной унификации: все centrosymmetric димерные молекулы $[Tl_2\{S_2CN(CH_2)_6\}_2]$ структурно равноценны. Уникальность структурной организации I обусловлена одновременным присутствием трех структурно неэквивалентных биядерных молекул $[Tl_2\{S_2CN(CH_2)_5\}_2]$, различающихся длиной связей Tl-S и КЧ металла. Centrosymmetric димеры “B” и “C” чередуются по длине полимерных цепей, тогда как неcentrosymmetric димеры “A” объединяют соседние полимерные цепи в двумерные слои. Геометрия координационных полиэдров таллия может быть аппроксимирована искаженной квадратной пирамидой (для КЧ = 5) и тригональной призмой (для КЧ = 6).

¹ Иванов А.В., Бредюк О.А., Анцуткин О.Н., Форшлинг В. // Коорд. химия. 2005. Т. 31, № 1. С. 48-54.

² Иванов А.В., Бредюк О.А., Герасименко А.В. и др. // Коорд. химия. 2006. Т. 32, № 5. С. 354-364.

Анализ условий произрастания древостоя в районе бассейна р. Комаровка

А.А. Брижатая

Ботанический сад-институт ДВО РАН

Электронная почта: al-lus@mail.ru

В докладе представлены результаты обработки таксационных описаний территории Учебно-опытного лесхоза Приморской государственной сельскохозяйственной академии (ПГСХА) Уссурийского района. Используя методику Петропавловского, Онищенко (1980) определены макроскопические характеристики, раскрывающие взаимосвязь геоморфологических условий произрастания и проявлений фитоценоза – тип лесной растительности, доминант древостоя, его содоминант и др. По нашим данным высота над уровнем моря является определяющей в распространении главной породы древостоя и превосходит влияние экспозиции и крутизны.

Проведён многофакторный анализ по выявлению наиболее благоприятных соотношений градаций факторов среды, обуславливающих произрастание конкретного доминанта лесной растительности. Показана возможность постановки и решения обратной задачи «многофакторного анализа» - определение комбинаций внешних факторов среды произрастания по проявлениям растительности.

Результаты проведённых исследований могут быть актуализированы при решении прогнозных задач динамики растительного покрова, которые являются основополагающими при оценке антропогенного воздействия и для восстановления коренной растительности на территории бассейна р. Комаровка.

Литература

Петропавловский Б.С., Онищенко В.В. Методика изучения влияния факторов среды на структуру лесной растительности с использованием лесостроительных материалов. Владивосток: Изд-во ДВНЦ АН СССР. 1980. С. 3-31.

Морские грибы как продуценты ферментов, расщепляющих углеводсодержащие соединения

О.А. Гордина¹, Ю.В. Бурцева²

¹ Дальневосточный государственный университет

² Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: burtseva@piboc.dvo.ru

Мицелиальные грибы, обитающие в морской среде, являются наименее изученной экологической группой. Адаптацию их в море, в первую очередь, обеспечивают ферментные системы, свойства которых могут отличаться от ферментных систем наземных видов. Проведенный нами ранее анализ внеклеточных О-гликозилгидролаз, продуцируемых морскими грибами, взятыми в различных регионах Японского и Охотского морей, показал, что среда обитания оказывает существенное влияние на ферментный состав [1, 2].

Наши исследования позволили выбрать 8 штаммов морских грибов в качестве возможных продуцентов как отдельных ферментов, так и целого комплекса ферментов, расщепляющих углеводсодержащие соединения. С целью выбора оптимальных условий для роста и продуцирования О-гликозилгидролаз (ламинариназы, пустуланазы, альгиназы, фукоидан-гидролазы, амилазы, α -D-маннозидазы, N-ацетил- β -D-глюкозаминидазы, β -D-галактозидазы и β -D-глюкозидазы) была исследована зависимость синтеза ферментов в мицелии от используемого источника углерода. Образцы были культивированы на питательной среде с агаром (контроль), ламинараном и фукоиданом. Также было исследовано влияние ингибитора ламинариназ, выделенного из бурой водоросли *L. cichorioides*, на биосинтез ферментов.

Показано, что среда культивирования также влияет на состав и уровень активности ферментов в мицелии. Присутствие в питательной среде ламинарана активизирует синтез фукоидан-гидролазы, амилазы, α -D-маннозидазы, ламинариназы, пустуланазы, альгиназы, но подавляет синтез N-ацетил- β -D-глюкозаминидазы, β -D-галактозидазы и β -D-глюкозидазы. В присутствии фукоидана в мицелии возрастает уровень активности α -D-маннозидазы и β -D-глюкозидазы относительно контрольной среды. Остальные ферменты синтезируются в том же или меньшем количестве. При добавлении в питательную среду ингибитора из бурой водоросли наблюдается увеличение активности α -D-маннозидазы, ламинариназы, пустуланазы, альгиназы и β -D-глюкозидазы, активность остальных ферментов понижается.

Разрабатывается схема очистки фукоидан-гидролазы из морского мицелиального гриба *Penicillium fuscum*. Фукоидан-гидролаза не сорбируется на различных ионообменных носителях. Предложена схема, которая включает комбинацию методов гель-фильтрации, ультрафильтрации и гидрофобной хроматографии. Было обнаружено, что фукоидан-гидролаза в 2M (NH₄)₂SO₄ теряет активность практически полностью, поэтому гидрофобная хроматография проводилась в градиенте NaCl, при котором фермент был более устойчив.

[1]. Burtseva Yu.V., Verigina N.S., Sova V.V., Pivkin M.V., Zvyagintseva T.N. Filamentous marine fungi as producers of O-glycosylhydrolases. β -1,3-glucanase from *Chaetomium indicum*. Mar. Biotechnol. 2003. Vol. 5. № 4. P. 349-359.

[2]. Бурцева Ю.В., Веригина Н.С., Сова В.В., Пивкин М.В., Звягинцева Т.Н. О-гликозилгидролазы морских мицелиальных грибов. β -1,3-Глюканазы морского гриба *Trichoderma aureviride*. Прикл. биохим. и микробиол. 2003. Т.39. № 5. С. 542-548.

Работа выполнена при поддержке, фонда CRDF (грант МД-003-1X) и фонда содействия отечественной науке, грантов президента Российской Федерации и ДВО РАН, РФФИ № 06-04-48540-а и № 05-04-48291-а.

Индивидуально-типологические особенности мелкой моторики руки

П.П. Григал¹, Н.И. Хорсева²

¹Московский Физико-Технический Институт (государственный университет)

²Институт Биохимической Физики им. Н.М.Эмануэля РАН

Электронная почта: grigalpp@gmail.com ,sheridan@himki.net,

Предложенный нами метод диагностики мелкой моторики руки позволяет оценить индивидуально-типологические особенности человека: получить объективную комплексную количественную информацию, отражающую характер движений пальцев рук и особенности, связанные с межполушарным взаимодействием, проявляющиеся при одновременном движении обеих рук, а также выявить и количественно оценить наличие синкинезий и уровень ригидности.

Было установлено, что профили мелкой моторики руки, полученные с помощью нашего метода индивидуальны для каждого испытуемого, а сам метод имеет высокую ретестовую надежность.

Данные предварительных экспериментов показали, что некоторые характеристики мелкой моторики руки могут зависеть от физического и эмоционального состояния испытуемого во время проведения теста. Не исключено, что соответствующий набор показателей мелкой моторики может стать важным фактором для оценки общего состояния испытуемого, которые мы планируем изучить в наших дальнейших исследованиях.

Установлено, что исходный профиль мелкой моторики рук (ММР) изменяется при выполнении различных мыслительных операций, например, тестов «механическая память» и «устный счет». Сопоставление полученных профилей до выполнения тестов, во время выполнения и после выполнения выявило, что у лиц, успешно справлявшихся с заданиями, профиль мелкой моторики после окончания работы с задачей быстро возвращался в состояние, практически идентичное исходному. У испытуемых, плохо справлявшихся с задачами, профиль ММР существенно менялся при выполнении тестов и практически оставался таковым после выполнения заданий. Следует отметить, что по данным диагностики психофизиологических параметров, нейропсихологического статуса, проведенной у лиц, которые имели затруднения при выполнении тестов, были выявлены ригидные зажимы, синкинезии, высокий уровень утомления, большое число ошибок при выполнении заданий «произвольное внимание» и «смысловая память». Однако методом компьютерной диагностики ММР такие показатели как ригидные зажимы и синкинезии были зарегистрированы не только качественно, но и количественно.

Проведенное нами сопоставление данных нейропсихологического обследования и результатов компьютерной диагностики ММР позволяет утверждать, что данный метод применим для диагностики латеральных предпочтений, в частности, диагностики фактора левшества, выявление факта переучивания с левой руки на правую и пр.

Мы показали, что метод компьютерной диагностики мелкой моторики руки может быть использован и в области исследования моторного и идеомоторного обучения.

Таким образом, данный метод может быть использован для диагностики готовности ребенка к школе, для оценки эффективности коррекционно-развивающих программ, для контроля динамики состояния больных, например в период реабилитации после травм и инсультов, для исследований в области нейропсихологии, в частности, при изучении латеральных предпочтений, синдромов отклоняющегося развития (логопедических затруднений и др.).

**Малая ГТФ-аза Ran влияет на сборку ядерных пор,
но не участвует в сборке цитоплазматических поровых комплексов**

Н.В. Губанова¹, Е.А. Онищенко², Е.В. Киселева¹

¹Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

²Содерторнский университетский колледж, Стокгольм, Швеция

Электронная почта: nat@bionet.nsc.ru

Ядерные поры (ЯП) – сложные структурные комплексы, встроенные в ядерную оболочку и обеспечивающие транспорт молекул между ядром и цитоплазмой. Помимо ЯП в клетках многих организмов в составе особого компартмента ЭПР встречаются цитоплазматические поровые комплексы (ЦПК), сходные по морфологии и составу с ЯП. ЯП и ЦПК синхронно собираются в телофазе и разбираются в профазе митоза через промежуточные структуры. Недавние исследования, проведенные в условиях *in vitro*, показали, что в процессе сборки ЯП принимает участие малая ГТФ-аза Ran, активная форма которой – Ran-ГТФ, локализуется в ядре, а неактивная – Ran-ГДФ, в цитоплазме. Гидролиз ГТФ необходим для импорта и экспорта молекул. В экспериментах *in vitro* было установлено, что повышение концентрации Ran-ГТФ инициирует сборку ЯП, возможно за счет освобождения белков ЯП из комплекса с другими белками, что делает их доступными для сборки пор (Zhang et al., 2002).

Задачей настоящей работы являлось исследование влияния Ran на процесс сборки ЯП и ЦПК в системе *in vivo*. Мы изменяли концентрацию активной и неактивной формы Ran в ранних эмбрионах дрозофилы, содержащих активно делящиеся ядра. Повышение концентрации Ran-ГДФ в ядрах ранних эмбрионов дрозофилы достигалось микроинъекцией в них мутантного белка – RanT24N, неспособного связываться с ГТФ, и ингибирующего функцию RCC1 (белка, обеспечивающего перевод Ran-ГДФ в Ran-ГТФ). Для повышения концентрации Ran-ГТФ в цитоплазме, в эмбрионы инъецировали мутантный белок RanQ69L, неспособный обеспечить гидролиз ГТФ. Одновременно с мутантными формами Ran в цитоплазму эмбрионов вводился циклогексимид, инактивирующий митотическую киназу cdk1, что, как было показано нами ранее (Onischenko et al., 2005), является необходимым для сборки ЯП и ЦПК. Проведенные исследования показали, что совместная инъекция RanT24N с циклогексимидом вызывает сборку ЦПК в цитоплазме эмбриона и формирования ядерной оболочки вокруг компактного хроматина, однако, ЯП в такой оболочке не собираются. При инъекции в ранние эмбрионы дрозофилы RanQ69L с циклогексимидом происходило нарушение формирования веретена деления, вследствие чего ядерная оболочка не собиралась, и хроматин располагался свободно в цитоплазме эмбриона. Также как и в первом случае в цитоплазме выявлялись ЦПК, часть из которых была ассоциирована с микротрубочками. Полученные данные, свидетельствуют о том, что в условиях *in vivo*, малая ГТФ-аза Ran не оказывает влияния на сборку ЦПК. Для сборки ЯП необходима высокая концентрация активной формы Ran в ядре и неактивной формы этого белка в цитоплазме клетки.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 04-48261-а) и гранта для молодых ученых имени академика Лаврентьева СО РАН (проект №106).

Zhang C., Goldberg M., Moore W., Allen T., Clarke P. // Eur. J. Cell Biol. 2002. V. 81. P. 623-33.

Onischenko E., Gubanova N., Kiseleva E., Hallberg E. // Mol. Biol. Cell. 2005. V. 16. P. 5152-5162.

Исследование состава жирных кислот некоторых массовых видов кораллов тропических вод Вьетнама

Д.А. Демидкова

Институт Биологии Моря, Дальневосточное отделение РАН,
Дальневосточный Государственный Университет

Электронная почта: perelivnica@mail.ru

Очень важной группой химических веществ кораллов являются липиды, которые составляют структурную основу биологических мембран, определяют энергетический баланс кораллов, могут дать информацию о составе пищи и путях переноса органического вещества между симбионтами этих колониальных организмов, выполняют защитные и сигнальные функции, а также могут использоваться в хемосистематике этой обширной и сложной в таксономическом плане группе морских организмов.

Целью данной работы было установить состав жирных кислот общих липидов некоторых массовых видов герматипных и мягких кораллов тропических вод Вьетнама, а также оценить возможность использования ряда жирных кислот в качестве хемотаксономических маркеров этих организмов.

Нами был изучен состав жирных кислот 17 видов герматипных (шестилучевых) кораллов, а так же 2 вида мягких (восьмилучевых) кораллов тропических вод Вьетнама. Шесть видов рифообразующих кораллов принадлежали к семейству *Acroporidae*, четыре вида кораллов к семейству *Pocilloporidae*, три вида - *Poritidae*, также изучены два вида кораллов семейства *Faviidae* (рода *Favia*); один вид семейства *Pectiniidae* (род *Echinophyllia*), и один вид семейства *Fungiidae* (род *Sandalolitha*). Два исследованных мягких коралла принадлежали родам *Sarcophyton* и *Cladiella*.

С точки зрения хемотаксономии наибольшие отличия были обнаружены между всеми представителями герматипных и мягких кораллов. Это различие заключается прежде всего в том, что мягкие кораллы содержат, отсутствующие в рифообразующих кораллах, тетракозаполиеновые ЖК, количество которых превосходило содержание кислоты 20:5n-3. Кроме того герматипные кораллы отличались большей долей насыщенных ЖК (в среднем более 50%), доля же насыщенных ЖК в октокораллах не превышала 40%.

Для оценки возможности использования состава жирных кислот в качестве маркеров в хемотаксономии герматипных кораллов нами были предприняты попытки применения некоторых статистических подходов. Для статистической обработки были использованы наши данные по составу общих ЖК 15-ти видов из шести родов герматипных кораллов, изученных в данной работе, а также аналогичные данные, полученные ранее для 15 видов тропических кораллов, принадлежащих к 5 семействам, *Acroporidae*, *Pocilloporidae*, *Poritidae*, *Dendrophyllidae* и *Milleporidae*, собранных в водах Вьетнама и Сейшельских островов (Latyshev et al., 1991).

Нами были представлены результаты построения дендрограммы, полученной методом кластерного анализа, при этом трактовка внутренних связей и различий в основной группе проанализированных объектов довольно затруднена, хотя ряд видов кораллов выделяются в отдельные группы (*Millepora* и *Tubastrea*).

Кроме того, были представлены результаты построения матрицы усредненных расстояний между отдельными видами кораллов, полученные методом многомерного шкалирования. Для статистической обработки использовалась матрица, построенная на основании содержания 9-ти ЖК (18:3n-6, 18:4n-3, 20:3n-6, 20:4n-6, 20:5n-3, 22:4n-6, 22:5n-6, 22:5n-3 и 22:6n-3), которые, как полагают, являются ключевыми в биосинтезе полиненасыщенных ЖК в кораллах. Результат, полученный этим методом с использованием полной матрицы общих ЖК, практически не отличался, поэтому мы посчитали целесообразным в дальнейшем придерживаться использованного нами подхода.

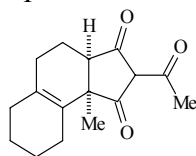
Особенности аминокислотного обмена у проростков *Fagopyrum esculentum* под действием трициклического циклопентанового β,β' -трикетона

Е.А. Демина

Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН
Электронная почта: dminae@mail.ru

У семян в состоянии вынужденного покоя при набухании в первую очередь отмечается активация метаболических процессов, после чего начинается подготовка к растяжению клеток осевых органов. Этот второй этап завершается проклевыванием, а затем происходит формирование органов проростка. Растущие осевые органы являются источником гормональных стимулов, поступающих в семядоли проростка и стимулирующих там активность гидролитических ферментов. Притекающие в осевые органы продукты мобилизации запасных веществ поддерживают, в свою очередь, рост осевых органов. Таким образом, в растущем проростке после проклевывания начинает функционировать донорно-акцепторная система, в которой роль донора играют семядоли, а роль акцептора – растущие органы проростка [1].

Нами было исследовано поступление в корень проростков гречихи *Fagopyrum esculentum* свободных аминокислот (АК), используемых клетками для различных процессов. Как было выяснено, в проклюнувшемся корне (через 24 ч после намачивания) в свободном состоянии находятся более 30 АК, из которых идентифицированы 29. Основная доля от общего количества аминокислот приходится на глутамин (12,9%) и глутаминовую кислоту (19,3%), аспарагиновую кислоту (7,2%), серин (7,8%), аланин (10,9%), глицин (4,8%), этаноламин (5,2%), пролин (4,1%) и аргинин (4,1%). В течение следующих 24 ч происходит резкое уменьшение содержания АК, которое почти не меняется в дальнейшем. Вероятно, за это время устанавливается определенный баланс свободных АК, используемых клеткой в процессах метаболизма.



1

Также было определено содержание свободных аминокислот в проростках, выращенных в растворах трициклического трикетона **1** концентрации 25 и 100 мкг/мл. Под действием этого соединения в проростках в первые 24 ч отмечалось высокое содержание всех свободных АК. В последующие периоды роста проростков содержание АК снижалось, но оставалось выше, чем в контрольных проростках. В случае концентрации 100 мкг/мл содержание АК было выше, чем при концентрации действующего вещества 25 мкг/мл.

Описанные результаты согласуются с полученными ранее данными об активизации метаболизма в меристематических клетках проростков огурца *Cucumis sativum* L. под действием вещества, близкого по структуре к соединению **1**.

Интересно отметить, что при выращивании проростков в растворах трикетона **1** обеих концентраций в корнях проростков через 48 ч резко повышалось относительное содержание аланина (до 27,1%) и в последующие периоды роста оставалось на высоком уровне. В то же время относительное содержание аланина в контрольных проростках не превышало 4%.

Работа выполнена при поддержке грантов ДВО РАН №06-III-A-05-120 и №05-CX-II-06-001.

Литература

1. Обручева Н.В., Антипова О.В. // Физиол. раст. 1997. Т. 44. №2. С. 287-302.

Исследование загрязнения атмосферы в результате лесных пожаров, на территории ЕАО.

Дорошенко А.М.

Институт комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН г. Биробиджан
 Электронная почта: anna-doroshenko@yandex.ru

Лесные пожары уничтожают лесную сырьевую базу, надолго выводя из строя продуктивные природные компоненты, а также они являются причиной хозяйственного и экологического ущерба.

При сгорании большого объёма древесины при лесных пожарах в воздушную среду поступает значительное количество токсичных химических соединений. Особенно следует обратить внимание на изменение количества твёрдых частиц, летучих углеводородов, оксидов азота, серы, углерода, альдегидов, т. е. соединений относящихся ко второму и третьему классу опасности.

Существует методика расчёта поступления в атмосферу некоторых из этих загрязнителей (оксида углерода, углеводородов, оксидов азота), на основе учёта объёма сгоревшей древесины, влажности, удельного веса.

По методике разработанной в ИКАРП ДВО РАН (г. Биробиджан) нами впервые рассчитано количество оксидов серы (IV), взвешенных частиц, альдегидов и аэрозолей (уравнения 1-5)..

$$m = m_{\text{древ}} * q * \alpha. \quad (1) \quad m_{\text{SO}_2} = 0,0004 * m_{\text{древ}} \quad (2) \quad m_{\text{Взвешенные частицы}} = 0,022 * m_{\text{древ}} \quad (3)$$

$$m_{\text{Альдегиды}} = 0,0008 * m_{\text{древ}} \quad (4) \quad m_{\text{Аэрозоли}} = 1,6 * 10^{-7} * m_{\text{древ}} \quad (5)$$

Где: m-масса загрязнителей, $m_{\text{древ}}$ - масса сгоревшей древесины в тоннах,

α - коэффициент полноты сгорания древесины,

q – количество загрязнителей, выделившихся при сгорании 1 т древесины

Результаты вычислений отражены в табл. 1

Таблица 1

Объем загрязнителей выделяемых при лесных пожарах (тонн)

ЗАГРЯЗНИТЕЛИ	1997	1998	1999	2000	2001	2002
Оксид углерода (II)	1309,2	899,8	2436,6	1145	2876	51
Оксиды азота	20,95	14,4	39	23	46	0,8
Оксид серы (IV)	3,04	0,98	7	4	8	0,14
Взвешенные частицы	2304,2	1578,03	429	252	506	9
Углеводороды	125,7	86,34	233,91	137	276	5
Альдегиды	3,04	2,087	14	8	17	0,3
Аэрозоли	0,0007	0,0005	0,003	0,02	0,004	0,00007

Количество поллютантов, выделяющихся в атмосферу вследствие лесных пожаров, зависит от объёма сгоревшей древесины. Исходя из данных таблицы, можно заключить, что углеводороды, оксиды углерода, взвешенные частицы выделяются в наибольших объемах и, следовательно, будут оказывать большее влияние на здоровье населения ЕАО.

Данные поллютанты вызывают у человека ряд заболеваний, таких как расстройства нервной системы, желудочно-кишечного тракта, заболевания кожных покровов. Так же наблюдаются аллергенные и мутагенные реакции, поражаются верхние дыхательные пути, нарушается обмен веществ в организме. Вследствие этого возрастает значение контроля за выбросами в ходе лесных пожаров.

Исследование уровня эстеразной активности экстрактов водоросли *Ulva fenestrata* как показателя качества морской воды

С.А. Дышловой, О.И. Ивчук, *И.В. Чикаловец

Дальневосточный государственный университет

* Тихоокеанский институт биоорганической химии Дальневосточное отделение РАН

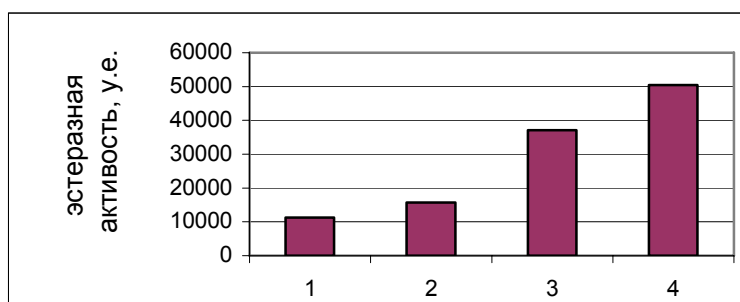
Электронная почта: dishlovoy@mail.ru

В связи с возросшим уровнем антропогенного влияния и, как следствие, загрязнения окружающей среды и водных экосистем в частности, всё большую актуальность приобретает проблема разработки высокочувствительных и в то же время простых методов контроля качества воды. Из литературных данных известно, что эстеразная активность клеточной культуры микроводорослей уменьшается в зависимости от изменения таких параметров как солёность воды, уровень концентрации тяжёлых металлов, наличия токсинов и т.п. Эстеразы – ферменты, гидролизующие сложноэфирные связи преимущественно во всех живых клетках, поэтому целью данной работы было исследование эстеразной активности макроводорослей и изучение возможности их использования для биомониторинга качества воды.

Нами был проведён скрининг среди водорослей бухты Троица залива Петра Великого Японского моря для определения уровня эстеразной активности в экстрактах, полученных из этих водорослей. Об эстеразной активности мы судили по выходу флуоресцеина после добавления к экстракту ферментного субстрата DAF (диацетилфлуоресцеин). Для дальнейших исследований была выбрана широко распространённая водоросль *Ulva fenestrata*. Было отобрано по 5 образцов из четырёх мест б. Троицы – б. Идол, б. Тизи, прибрежная зона посёлка Новый, порт Зарубино – различающихся по уровню чистоты воды, о котором мы судили по более ранним работам. Отбор проводился с одинаковой глубины (1,5 метра) в одно и то же время. Приготовленные экстракты анализировались на уровень эстеразной активности и на содержание белка. После чего производился пересчёт активности в условных единицах на 1 мг белка.

Как видно из диаграммы, наименьший уровень эстеразной активности наблюдался в образцах, собранных в точке с наиболее высоким уровнем загрязнения (прибрежная зона пос. Новый), в то время как в б. Идол, имеющей самую чистую воду, были получены образцы с самой высокой эстеразной активностью.

Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод о возможности использования макроводорослей в биомониторинге загрязнения водоёмов. Вместе с тем следует отметить, что для практического использования метода необходимы дальнейшие исследования, т.к. при изменении условий сбора образцов (с глубины 3 и 5 метров) эстеразная активность водоросли, собранной в б. Идол увеличивалась в 6 раз.



Уровень эстеразной активности экстрактов водоросли *Ulva fenestrata*, собранной в разных местах. 1 – прибрежная зона п. Новый, 2 – порт Зарубино, 3 – б. Тизи, 4 – б. Идол.

Работа выполнена при поддержке фонда CRDF (грант VL-003-1X).

Роль костного матрикса в нарушении минерализации костной ткани при сенильном остеопорозе у крыс

К.И. Ершов

*Новосибирский государственный педагогический университет
ФГУ НИИ травматологии и ортопедии Росздрава, г. Новосибирск*

Электронная почта: kershov@bk.ru

Цель исследования – изучить изменения протеогликанов (ПГ) и микро-, макроэлементов костной ткани на модели сенильного остеопороза у крыс.

Методы. В работе использовались 40 крыс-самцов линии OXYS в возрасте 4, 6, 8 и 12 мес, полученных из вивария Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск).

Содержание Са, Р и Fe в костных фрагментах тел позвонков, передних, задних конечностей и костей обеих челюстей определяли методом атомно-абсорбционной спектроскопии на спектрометре “DURR Ju”, Япония. Из органического матрикса костной ткани выделяли ПГ. Количество гликозаминогликанов (ГАГ) определяли аналитическими методами, электрофорезом в 1% геле агарозы и после обработки их хондроитиназой АС.

Результаты. К 6 мес. в плечевой кости у крыс закономерно увеличивалось количество Са ($17,5 \pm 0,29\%$), Р ($5,7 \pm 0,11\%$) и Fe ($63,6 \pm 12,1$), на этот период приходится пик минерализации. Эти изменения коррелируют с изменениями состава и количества ПГ костной ткани. С возрастом в общем пуле хондроитинсульфатов увеличивается относительное содержание дерматансульфата - в костях передних на 50% ($1,53 \pm 0,04$), задних конечностей - 35% ($0,79 \pm 0,04$) и костях обеих челюстей - 80% ($0,85 \pm 0,03$). Снижается абсолютное количество ГАГ, накапливается большое количество низкомолекулярных ГАГ и олигосахаридов во всех видах костей крыс линии OXYS.

В возрасте 12 мес. у крыс в передних конечностях увеличивается количество Fe ($86,3 \pm 13,5$) и Р ($6,7 \pm 0,17\%$), уменьшается соотношение Са/Р. К 12 мес. во всех типах костей на 20-40% снижается доля ПГ в органическом матриксе костной ткани. В разных типах костей изменения выражены в разной степени, но особенно значительно меняется структура межклеточного матрикса в костях тел позвонков и передних конечностях.

Таким образом, мы предполагаем, что низкие прочностные свойства костной ткани при сенильном остеопорозе, нарушение минерализации обусловлены структурно-функциональными изменениями органического матрикса и является следствием дегенеративных процессов, развивающихся с возрастом.

Образование супрамолекулярных комплексов в реакциях аддуктообразования диэтилдитиокарбаматов цинка и меди(II) с морфолином по данным ЭПР и РСА

А.С. Заева, И.А. Луценко

Институт геологии и природопользования, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: anzaeva@rambler.ru

Изучение процессов аддуктообразования, а также исследование строения и физико-химических свойств аддуктов и их сольватированных форм [1,2] является одним из актуальных направлений развития координационной химии, так как многие аддукты проявляют высокую молекулярную летучесть в вакууме и являются технологическими предшественниками сульфидов переходных металлов – материалов для электронной промышленности.

По данным РСА и ЭПР исследованы супрамолекулярные комплексы диэтилдитиокарбаматов цинка и меди(II), образующиеся в реакциях аддуктообразования с морфолином и включающие внешнесферные молекулы диморфолинометана $\text{CH}_2\{\text{N}(\text{CH}_2)_4\text{O}\}_2$.

Попытки получения кристаллических форм аддуктов диэтилдитиокарбаматов цинка и меди(II) с морфолином – $[\text{M}\{\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{O}\}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{C}_2\text{H}_5)_2\}_2]\cdot\text{L}$, включающих сольватные молекулы CH_2Cl_2 , по данным РСА приводят к образованию супрамолекулярных соединений, во внешней сфере которых присутствуют молекулы диморфолинометана $\text{CH}_2\{\text{N}(\text{CH}_2)_4\text{O}\}_2$. (Последняя является продуктом взаимодействия морфолина с хлористым метиленом).

В спектре ЭПР кристаллического $2[\text{Cu}\{\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{O}\}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{C}_2\text{H}_5)_2\}_2]\cdot\text{CH}_2\{\text{N}(\text{CH}_2)_4\text{O}\}_2$ наблюдается трехосная анизотропия g- и A^{Cu} -тензоров, присутствие квартетов разрешенной СТС от ядер ^{63}Cu или ^{65}Cu ($I = 3/2$) во всех трех ориентациях, а также наличие в высокопольной области спектра пика дополнительного поглощения (ДП) высокой интенсивности. Наблюдаемый характер анизотропии позволяет сделать вывод, что геометрия ближайшего окружения комплексообразователя в исследуемом аддукте существенно отклоняется от квадратно-пирамидальной (C_{4v}) в сторону тригональной бипирамиды (D_{3h}), а основное состояние неспаренного электрона является результатом смешивания $3d_{x^2-y^2}$ - и $3d_{z^2}$ -АО меди(II).

По данным РСА в состав супрамолекулярного комплекса $2[\text{Zn}\{\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{O}\}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{C}_2\text{H}_5)_2\}_2]\cdot\text{CH}_2\{\text{N}(\text{CH}_2)_4\text{O}\}_2$ входят две структурно-неэквивалентные молекулы аддукта, которые посредством водородных связей объединяются через внешнесферную молекулу диморфолинометана (рис. 1). Наиболее заметные различия между молекулами аддуктов заключаются в прочности связывания координированных молекул морфолина: $\text{Zn}(1)\text{-N}(3)$ 2.068 Å и $\text{Zn}(2)\text{-N}(6)$ 2.082 Å, а также во вкладе тригонально-бипирамидальной (ТБП) составляющей в геометрию полиэдров цинка $[\text{ZnNS}_4]$: 54.2% (Zn1) и 45.9% (Zn2).

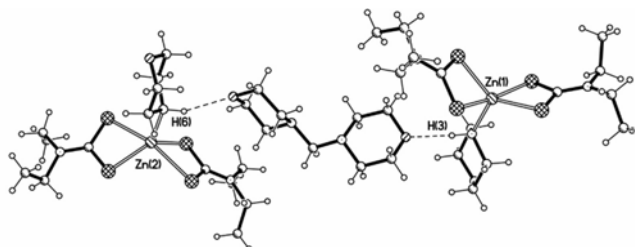


Рисунок 1 - Структура супрамолекулярного соединения $2[\text{Zn}\{\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{O}\}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{C}_2\text{H}_5)_2\}_2]\cdot\text{CH}_2\{\text{N}(\text{CH}_2)_4\text{O}\}_2$

Значительное структурное подобие молекул аддуктов, входящих в состав супрамолекулярного соединения, и характер отмеченных структурных различий позволяет классифицировать их как конформационные изомеры.

Структурные особенности и ЯМР ^{195}Pt спектроскопия монокристаллического куперита (природный PtS)

М.А. Заремба

¹Институт геологии и природопользования Дальневосточное отделение РАН
Электронная почта: michael_z@ascnet.ru

Куперит (природный PtS) - минерал группы платины является одним из ее основных источников в медно-никелевых сульфидных рудах. Обычно куперит кристаллизуется в двух морфологических модификациях: неправильные зерна и, реже, призматические кристаллы микронных и субмикронных размеров в ассоциации с железистыми разновидностями платины и осмий-иридиевыми минералами. Собственные монокристаллические минеральные зерна куперита встречаются крайне редко. Однако их присутствие отмечается в месторождениях Дальнего Востока (Приохотская платиноносная провинция Маймаканской зоны Юнско-Даньского золотоносного узла).

В настоящей работе по данным рентгеновской дифракции, рентгеноспектрального микроанализа и растровой электронной микроскопии высокого разрешения детально охарактеризована монокристаллическая форма куперита (природного PtS), состав которого близок к стехиометрическому. Впервые показана возможность использования статической и MAS ЯМР ^{195}Pt спектроскопии для исследования природных минералов платины.

Особенностью образцов является близость их состава к стехиометрическому (85.826 мас.% Pt и 13.917 мас. % S) и отсутствие примесей никеля и палладия.

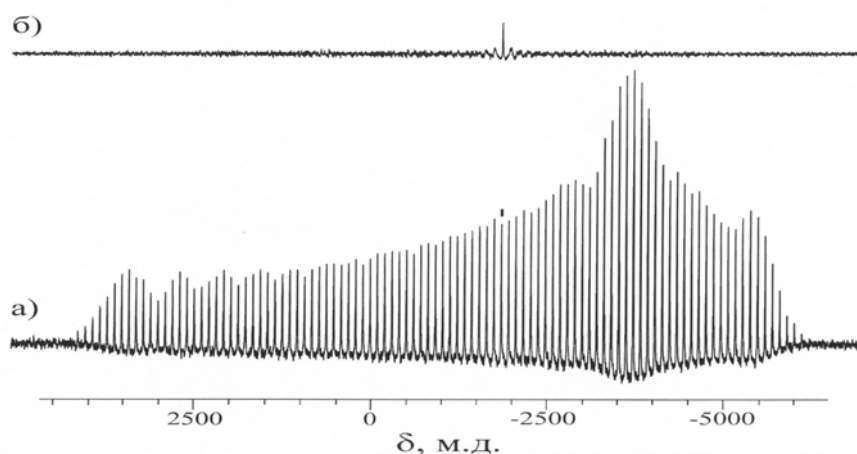


Рис. 1. Результирующий MAS ЯМР ^{195}Pt спектр монокристаллических зерен куперита (а). (Верхняя вертикальная риска обозначает резонансный сигнал в центре тяжести спектра.) Частота вращения образца 8000(1) Гц. Вид спектра в условиях плавной раскачки частоты вращения (б).

Размер и форма приведенного на рис. 1а MAS ЯМР спектра свидетельствует о том, что тензор хим.сдвига ^{195}Pt близок случаю аксиальной симметрии с $\delta_{\text{iso}} = -1850$ м.д. Из статического ЯМР ^{195}Pt спектра были рассчитаны главные значения тензора хим.сдвига ^{195}Pt : $\delta_{xx} = -5920$ м.д., $\delta_{yy} = -3734$ м.д., $\delta_{zz} = +4023$ м.д., а также анизотропия хим.сдвига ($\delta_{\text{aniso}} = 5873$ м.д.) и параметр асимметрии ($\eta = 0.37$).

По данным ЭПР исследованные образцы куперита характеризуются присутствием меди(II). Хорошо разрешенные спектры ЭПР отвечают случаю аксиальной симметрии. В параллельной и перпендикулярной ориентациях спектров присутствуют квартеты разрешенной сверхтонкой структуры от ядер атомов меди $^{63,65}\text{Cu}$ ($I = 3/2$). Совокупность параметров ЭПР указывает, что атомы меди находятся в чисто кислородном окружении, то есть не входят в кристаллическую решетку куперита, а адсорбированы на поверхности слоев куперита.

Таким образом, в работе по данным рентгеновской дифракции, рентгеноспектрального микроанализа, растровой электронной микроскопии высокого разрешения и ЭПР детально охарактеризована монокристаллическая форма куперита. Показана возможность использования статической и MAS ЯМР ^{195}Pt спектроскопии для исследования природных минералов платины.

Ризохалин В – новый двухголовый сфинголипид из губки *Rhizochalina incrustata*

А.М. Захаренко, Т.Н. Макарьева, А.Г. Гузий

Тихоокеанский институт биоорганической химии Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: funtik@chem.dvgu.ru

Среди вторичных метаболитов морских беспозвоночных имеется уникальная по разнообразию строения и биологической активности группа – сфинголипиды. Особый интерес вызывают, так называемые двухголовые сфинголипиды. На данный момент биосинтетические пути образования двухголовых сфинголипидов, приводящих к α,ω -бифункционализации сфингоидных оснований неясны, они не имеют структурных аналогов среди известных природных соединений и чрезвычайно редки.

Целью данной работы является выделение индивидуальных аналогов двухголового сфинголипида ризохалина из губки *Rhizochalina incrustata*.

В результате проводимой работы, из губки *Rhizochalina incrustata* (Porifera, class Demospongiae, subclass Ceratinomorpha, order Haplosclerida, family Phloedictydiae) собранной во время третьей научной экспедиции НИС Академик Опарин (Ноябрь 1986, Сейшильские острова), методами гидрофобной хроматографии и ВЭЖХ на обратной фазе, был выделен перацетат нового двухголового сфинголипида. Установлена химическая структура данного двухголового сфинголипида с использованием методов MALDI-TOF спектрометрии и методов ЯМР ^1H и ^{13}C спектроскопии, включая методы двухмерных экспериментов.

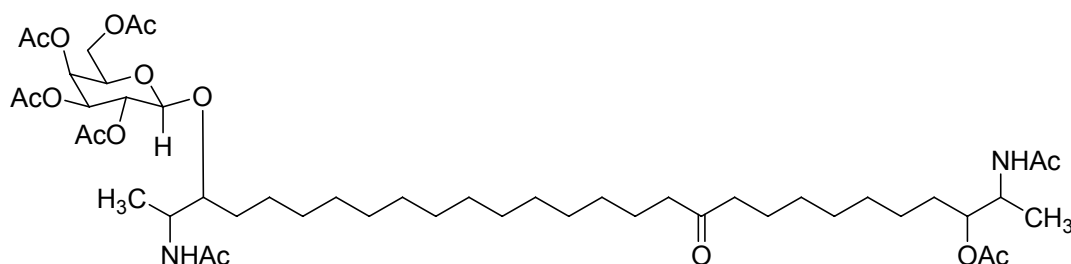


Рисунок 1. Химическая структура ризохалина В.

Работа поддержана грантом ректора ДВГУ.

Работа выполнена при поддержке фонда CRDF (грант VL-003-1X).

Оценка аккумулятивной способности дендрофлоры на территории г Биробиджан

В.Б. Калманова

Институт комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН

Электронная почта: Kalmanova@yandex.ru

Растительность – неотъемлемая часть городской среды. Изучение состояния зеленых насаждений играет большую роль для выбора направлений устойчивого развития урбанизированных территорий, поскольку они способствуют локализации тяжёлых металлов и других загрязнителей вдоль магистралей и дорог, защищают почву, кондиционируют воздух, снижают уровень шума, препятствуют возникновению неблагоприятных ветровых режимов, кроме того, благотворно действуют на эмоциональное состояние человека.

В среднем экологическое состояние дендрофлоры г. Биробиджана можно признать удовлетворительным, хотя в местах сосредоточения промышленных источников загрязнения и в частном секторе состояние весьма неудовлетворительное. Отравление газообразными ингредиентами промышленных отходов и тяжелыми металлами городской растительности проявляется одинаково в виде побеления, а затем потемнения и опадания листовой пластинки, без полного ее расцветивания, снижение прироста или усыхание деревьев и главное – сокращение вегетационного периода на весьма ощутимые величины (по нашим наблюдениям – иногда до 1 – 1,5 месяцев).

Данные исследования подтвердились химическим анализом коры и листьев древостоя. Сравнительная оценка проведена у зеленых насаждений одного вида, произрастающих на исследуемых площадках. Так, способность аккумуляции тяжелых металлов выше у ивы (любого вида), особенно коры, в связи с ее физиологическими особенностями; у тополя душистого происходит в основном накопление загрязнителей в листовой пластине, аналогично у березы плосколистной, желтой (табл.1).

Таблица 1

Накопление тяжелых металлов в урбодендрофлоре г. Биробиджана

Адрес	Вид древостоя	Хим. анализ листьев и коры	Ингредиенты					
			Cu мг/кг	Zn мг/кг	Pb мг/кг	Fe мг/кг	Ni мг/кг	Mn мг/кг
Ул. Читинская	тополь душистый	кора	2,49	84,25	2,40	30,13	<0,02	15,18
		листья	5,19	185,38	5,85	273,44	5,63	220,88
	ива Шверина	кора	15,36	157,92	12,50	351,25	<0,02	422,2
		листья	2,43	127,19	4,70	109,69	0,84	607,19
Ул. Волочаевская	тополь душистый	кора	93,48	88,88	2,50	70,66	<0,02	7,69
		листья	4,45	332,50	3,20	205,00	1,13	32,38
	ива Шверина	кора	4,71	420,31	7,27	55,84	4,06	181,75
		листья	4,69	226,67	0,55	34,79	4,57	877,50

Таким образом, растительность можно использовать как биоиндикатор экологического состояния городской среды. В нашем случае, в связи с природными особенностями г. Биробиджана (климатических условий, однотипности видового состава зеленых насаждений) в качестве показателя экологической напряженности урбосреды можно использовать иву Шверина и тополь душистый.

Экспериментальное изучение характера биологического действия препарата на основе липидов гепатопанкреаса камчатского краба, содержащего 1-О-алкил-диацилглицериды и ω 3 полиненасыщенные жирные кислоты при заболеваниях алиментарной этиологии

Ю.К. Караман

НИИ медицинской климатологии и восстановительного лечения Сибирское Отделение РАМН

Электронная почта: karaman@inbox.ru

Морские гидробионты являются традиционными источниками ω 3 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), используемых для профилактики и лечения целого ряда заболеваний (Эндакова Э.А., Новгородцева Т.П., Козычева Е.В. // *Вопр. питания.* 2000. Т.69. № 1/2. С. 37-40; Archer S.L., Green D., Chamberlain M. et al. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998. Vol. 18. № 7. P.1119-1123). В то же время в состав липидной фракции внутренних органов некоторых морских гидробионтов (акула, кальмар, краб) входят 1-О-алкил-диацилглицериды, обладающие высокой биологической активностью, отличной от свойств ПНЖК ω 3 (Гаджиева З.М., Поздняков А.Л., Кулакова С.Н. // *Вопр. питания.* 2002. № 6. С. 35-37; Караман Ю.К., Касьянов С.П. // *Наука. Мед. экология. Здоровье.* № 1(25). 2006. С.84-87; Pugliese P.T., Jordan K., Cederberg H. // *J. Altern. Complement. Med.* 1998. Vol.4. №.1. P.87-99). Изучено влияние суммарной липидной фракции камчатского краба *Paralithodes camtschatica* - биологически активная добавка (БАД) «Крусмарин», содержащей 10% 1-О-алкил-диацилглицеридов, 10% ω 3 полиненасыщенных жирных кислот и комплекс биоантиоксидантов (альфа-токоферол, бета-каротин), на работу систем «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» (ПОЛ-АОЗ), липидтранспортной, на состояние иммунного статуса организма в эксперименте на 30-ти крысах-самцах с моделированной гиперлипидемией. БАД «Крусмарин» предоставлена Тихоокеанским научно-исследовательским рыбохозяйственным центром, г. Владивосток. Введение БАД осуществлялось интрагастрально в течение 30 дней в дозе 0,6 мл/кг массы тела крысы. Показано, что Крусмарин обладает липидкорректирующими свойствами, проявившиеся в уменьшении концентрации триглицеридов, общего холестерина и увеличении уровня холестерина липопротеидов высокой плотности. Состояние оксидативных процессов под влиянием курсового введения БАД «Крусмарин» выходит на нормальный физиологический уровень функционирования, о чем свидетельствует уменьшение продуктов ПОЛ в печени и в крови, нормализации общей антиоксидантной активности. Иммунотропные и противовоспалительные свойства препарат проявляет в способности модулировать работу клеток белой крови. Выявлено увеличение количества лимфоцитов, снижение уровня лейкоцитов и провоспалительных цитокинов (TNF- α , INF- γ) в крови.

Таким образом, комплекс биологически активных компонентов БАД «Крусмарин» обладает гиполлипидемическими, антиоксидантными, иммуномодулирующими и противовоспалительными свойствами. Установленные эффекты препарата липидов гепатопанкреаса камчатского краба позволяют рекомендовать БАД «Крусмарин» в качестве вспомогательного средства профилактики и лечения заболеваний, сопровождающихся воспалительными процессами, нарушениями в обмене липидов и системы иммунитета, интенсификацией процессов липопероксидации.

Культура тканей и суспензии клеток *Brassica napus* в условиях *in vitro* как основа получения трансгенных растений – продуцентов биополимеров

Е.В. Карпухина

Красноярский государственный университет

Электронная почта: zinnia@list.ru

Полигидроксиалканоаты (ПГА) – бактериальные полиэфиры, вызывающие повышенный интерес как потенциал возобновляемых ресурсов биоразрушаемых полимеров и обладающие биосовместимостью. ПГА синтезируются многими микроорганизмами в качестве запасного источника углерода и энергии. Данный класс биополимеров является перспективным сырьем для медицинской, фармакологической, пищевой промышленности, для использования в коммунальном и сельском хозяйстве.

Одно из главных ограничений в применении ПГА как биоразрушаемых пластиков в больших объемах – их высокая стоимость относительно промышленных полимеров. В результате достижений в области молекулярно-генетических исследований и детального исследования системы синтеза ПГА появились перспективы для получения рекомбинантных организмов как более эффективных продуцентов биополимеров. Фотосинтетическая продукция ПГА трансгенными растениями на естественном свете позволит понизить стоимость полимеров относительно бактериального синтеза и значительно нарастить объем их производства. В качестве объекта для трансформации с целью дальнейшего промышленного получения биопластиков могут быть использованы растения масличных сельскохозяйственных культур, такие как рапс, так как они накапливают в семенах до 45-50 % липидов. При этом начальные этапы синтеза ПГА и липидов одинаковы, что позволяет использовать бактериальные гены, ответственные за конечное превращение интермедиатов в ПГА. В связи с этим целью работы было изучение условий культивирования тканей и суспензий клеток *Brassica napus* в условиях *in vitro* для дальнейшего получения растений-продуцентов ПГА.

Ряд методик получения трансгенных растений предусматривает наличие суспензионной или каллусной культуры *in vitro*.

Для получения суспензионной культуры клеток использовали апикальные меристемы пророщенных семян рапса. В эксперименте использовали модифицированную жидкую среду Мурасиге-Скуга (МС) с витаминами (2 мг/л никотиновой кислоты, 2 мг/л пиридоксина-НСl, 20 мг/л тиамин-НСl) Для индукции пролиферации клеток использовали гормоны в следующих концентрациях: 0.5 мг/л 2.4Д, 2.0 мг/л ИУК, 0.5 мг/л 6 БАП. Суспензию культивировали в темноте на шейкере при 120 об/мин и температуре 25°C. Для определения экспоненциальной фазы роста суспензионной культуры клеток рапса в течение культивирования проводили измерение плотности суспензии в камере Фукса-Розенталя. Экспоненциальная фаза роста суспензионной культуры клеток рапса приходилась на 7-10 сутки культивирования.

Для индукции микрокаллусов использовали суспензию *Brassica napus*, количество клеток составило 1600-1800 на чашку. Благоприятными сочетаниями гормонов из изученных для стимуляции каллусообразования были сочетания ИУК в концентрации 0,05 мг/л с 6-БАП в концентрации 2 мг/л или кинетином, концентрация которого составляла 2-7 мг/л. Данные гормоны в указанных концентрациях приводили к образованию микрокаллусов из клеточных агрегатов.

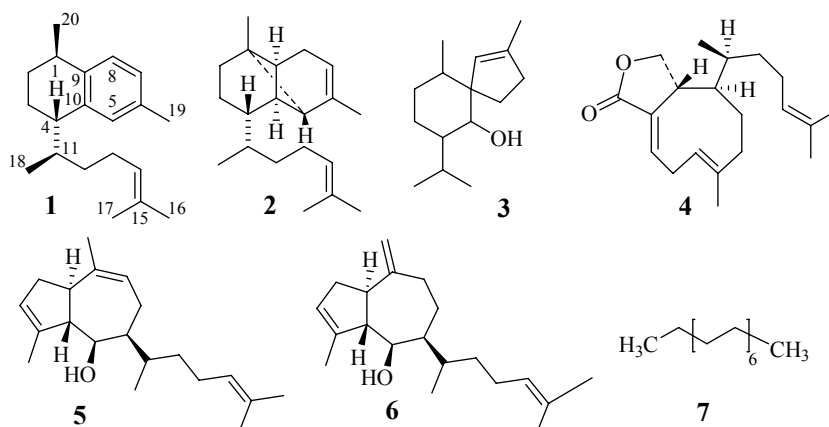
Индукция каллуса из дифференцированных тканей рапса и пролиферация клеток происходила в присутствии гормонов 2.4 Д (2-4 мг/л) и 6-БАП (2-16 мг/л) в различных сочетаниях. Высокие концентрации ауксина препятствовали индукции каллусогенеза или ингибировали деление каллусных клеток. Эмбрио- и морфогенез в культуре каллусных тканей на питательных средах с исследуемыми концентрациями гормонов происходил спонтанно и, возможно, не зависел от концентрации экзогенных регуляторов роста в изученных вариантах. В отсутствие ауксина происходило образование зачатков побегов.

Новые дитерпеноиды из дальневосточной бурой водоросли *Dictyota dichotoma*

С.А. Колесникова, А.И. Калиновский, С.Н. Фёдоров, Л.К. Шубина, В.А. Стоник
Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН
Электронная почта: sovinn81@inbox.ru

Низкомолекулярные вторичные метаболиты морских бурых водорослей отличаются разнообразием химических структур и, как правило, являются биологически активными веществами [1].

Нами впервые был исследован этанольный экстракт дальневосточной бурой водоросли *Dictyota dichotoma*, собранной в бухте Троица на МЭС ТИБОХ ДВО РАН в августе 2004 года. Сочетанием методов колоночной хроматографии и ВЭЖХ на прямой фазе были выделены два новых дитерпеноида (**1**, **2**), известные для *D. dichotoma* дитерпеноиды диктиолактон (**4**) [2], изопахидиктиол А (**5**) [3], пахидиктиол А (**6**) [4] и сесквитерпеноид аксенол (**3**) [5]. Впервые из данного вида водоросли был также выделен природный углеводород пентадекан (**7**).



Структуры и стереохимия соединений **1** и **2** были установлены на основе данных одномерной и двумерной ЯМР-спектроскопии (^1H и ^{13}C ЯМР, ^1H - ^1H COSY, DEPT, HSQC, HMBC и NOESY), масс-спектрометрии и оптического вращения.

Установлено, что соединение **1** является новым стереоизомером серрулатанового дитерпеноида (1*S*, 4*R*, 11*S*)-эрогоргиана [6], ранее выделенного из горгонарии *Pseudopterogorgia elisabethae* и обладающего значительной противотуберкулезной активностью. Для энт-эрогоргиана (**1**) была определена 1*R*, 4*S*, 11*R* абсолютная стереохимия.

Соединение **2** является новым (+)-1,5-цикло-5,8,9,10-тетрагидроэрогоргианом и содержит ранее не описанную трициклическую дитерпеноидную систему. Для соединения **2** установлены 1*R*^{*}, 4*S*^{*}, 5*S*^{*}, 9*S*^{*}, 10*S*^{*} относительные конфигурации асимметрических центров.

Было показано, что аксенол (**3**) и пахидиктиол А (**5**) проявляют умеренную цитотоксическую активность по отношению к опухолевым клеткам ТНР-1, SNU С-4, Hela, а также мышинным эпителиальным клеткам JB6 Cl 41.

1. Faulkner D.J. // Nat. Prod. Rep. 2002. № 19. P. 1-48.
2. Jacobi P.A., Ueng S., Carr D. // J. Org. Chem. Vol 44, N 12, 1979.
3. Duran R. et al. // Tetrahedron. 1997. № 53. P. 8675-8688.
4. Hirschfeld D.R. et al. // J. Am. Chem. Soc. 1973. № 95. P. 4049-4050.
5. De Rosa S. et al. // Phytochemistry. 1994. V. 37. P. 1327-1330.
6. Davies H.M.L., Walji A.M. // Angev. Chem. Int. Ed. 2005. № 44. P. 1733-1735.

Сравнительная характеристика лектинов, выделенных из морского червя *Serpula vermicularis*

Н.Г. Корнейчук¹, В.И. Молчанова², И.В. Чикаловец²

¹ Дальневосточный государственный университет

² Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

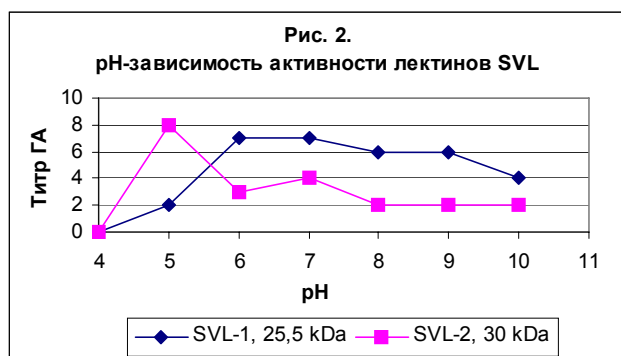
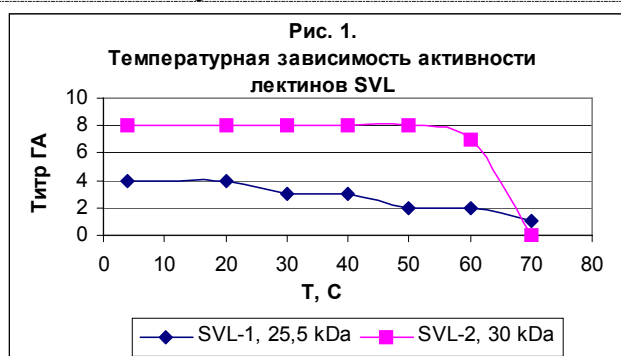
Электронная почта: marianna137@gorodok.net

Лектины – белки, избирательно связывающиеся с моно-, олигосахаридами, а также с углеводными цепями биополимеров, при этом не являющиеся продуктами иммунной системы. Они широко распространены в природе и найдены практически во всех живых организмах, включая растения, водоросли, грибы, животных (позвоночных и беспозвоночных), микроорганизмы и вирусы. Благодаря своим уникальным свойствам, лектины, выделенные из животных и растений, интенсивно используются в качестве биохимических инструментов в биотехнологии и биомедицинских исследованиях. В последнее время повысился интерес к морским беспозвоночным как к источнику новых уникальных биологически активных веществ, обладающих целым рядом активностей: антиопухолевой, антимикробной, антибактериальной, антивирусной.

Ранее в лаборатории химии неинфекционного иммунитета ТИБОХ ДВО РАН из морского червя *Serpula vermicularis* был выделен и охарактеризован лектин с М.м. 25,5 кДа (SVL-1). Одновременно в экстракте был обнаружен еще один лектин с М.м. 30 кДа (SVL-2). Для того чтобы выяснить, не является ли этот лектин изоформой ранее выделенного, нами проведено исследование свойств SVL-2 в сравнении с ранее выделенным SVL-1.

Методом гемагглютинации была изучена температурная -, pH - и Ca^{2+} - зависимости активности лектина. Показано, что оба лектина являются Ca^{2+} - независимыми. При исследовании температурной стабильности показано, что SVL-2 является более термостабильным белком по сравнению с SVL-1 (рис.1). Максимальную активность лектин SVL-2 проявляет при pH 5,0, в то время как SVL-1 – при pH 6-7 (рис.2). Углеводная специфичность лектинов была изучена методом ингибирования гемагглютинации с использованием различных моносахаридов, полисахаридов и гликопротеинов. Как видно из таблицы, оба лектина отличаются по своей специфичности (Примеч.: н.и. – нет ингибирования).

Таким образом, можно сделать вывод, что из морского червя *Serpula vermicularis* были выделены два различных лектина.



Ингибитор	Мин. ингибирующая концентрация (мг/мл)	
	SVL-1	SVL-2
D-Glc	н.и.	$1,5 \times 10^{-4}$
D-Gal	н.и.	н.и.
GalNAc	н.и.	н.и.
GlcNAc	1,333	5
L-Fuc	н.и.	н.и.
D-Man	н.и.	н.и.
NANA	н.и.	н.и.
PSM	н.и.	$6,0 \times 10^{-4}$
Fet	н.и.	$4,88 \times 10^{-4}$
dsFet	н.и.	$1,2 \times 10^{-4}$
Ovo	0,12	$1,5 \times 10^{-4}$
Ova	0,30	$6,25 \times 10^{-2}$
Mannan1	н.и.	$6,1 \times 10^{-5}$
Mannan2	н.и.	0,625
Mannan3	н.и.	$1,56 \times 10^{-2}$
Mannan4	н.и.	0,25
Mannan5	н.и.	$3,9 \times 10^{-3}$

Липид-сапониновые комплексы на основе тритерпеновых гликозидов голотурий и гликоглицеролипидов морских макрофитов – новый тип носителей антигенов для разработки субъединичных вакцин

А.Н. Мазейка², И.А. Ли¹, А.М. Попов¹, Н.М. Санина², Э.Я. Костецкий², О.Ю. Портнягина¹

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

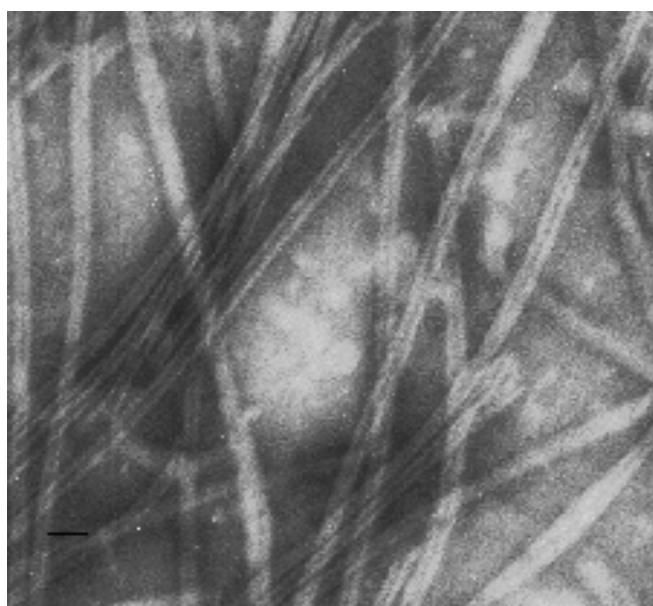
²Дальневосточный государственный университет

Электронная почта: chembiolog@inbox.ru

Тритерпеновые гликозиды голотурий - типичные мембранотропные соединения, проявляющие гемолитическую активность. Гемолитическая активность данных веществ, как и многих сапонинов, объясняется способностью образовывать липид-гликозидные проводящие комплексы селективно связываясь со стеринами плазматических мембран. Вместе с тем тритерпеновые гликозиды голотурий обладают выраженной иммуностимулирующей активностью. Аналогичными свойствами обладают тритерпеновые сапонины из *Quilaja saponaria*, являющиеся структурообразующим компонентом иммуностимулирующих комплексов (ИСКОМ). В такие надмолекулярные липид-сапониновые комплексы возможно встраивать антигены субъединичных вакцин, чем достигается значительное повышение их эффективности. Таким образом тритерпеновые гликозиды голотурий открывают новые возможности в создании носителей антигенов для разработки субъединичных вакцин.

Рассматривается способность тритерпеновых гликозидов голотурий к образованию надмолекулярных липид-сапониновых комплексов, изучена связь гемолитической активности и структурообразующих свойств данных соединений. Описан новый путь модификации состава ИСКОМ состоящий в замене сапонинов *Quilaja saponaria* тритерпеновыми гликозидами голотурий. В результате проведенной работы получен принципиально новый липид-сапониновый комплекс на основе моногалактозилдиацилглицеролов морских макрофитов и кукумариозида А2-2 из голотурии *Cucumaria japonica*. Приведена морфологическая характеристика полученного комплекса, предложена молекулярная модель его строения. Установлена возможность создания надмолекулярных вакцинных конструкций на основе описанного комплекса с использованием мембранных антигенов. Разработана методика получения данных липид-сапониновых комплексов и вакцинных препаратов на их основе.

Электронная микрофотография полученного липид-сапонинового комплекса. Негативное контрастирование ФВК рН 7.2, масштабная линия соответствует 100 нм



Выявление и идентификация белков, вовлеченных в процесс миогенной дифференцировки скелетномышечных миобластов человека

А.А. Макаров¹, К.В. Лисицкая¹, Л.С. Еремина²

¹Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН

²Российский университет дружбы народов

Электронная почта: amktrv@mail.ru

Изучение молекулярных механизмов миогенной дифференцировки представляется весьма важным, поскольку может позволить разработать новые подходы и технологии воздействия на процессы мышечной регенерации и гипертрофии. При постановке модельных экспериментов по изучению миогенной дифференцировки в качестве объекта исследования могут выступать миобласты, то есть культивируемые сателлитные клетки скелетной мускулатуры. Способность как к пролиферации, так и к дифференцировке с образованием многоядерных миотуб, делает миобласты удобной моделью для изучения молекулярных механизмов миогенной дифференцировки. Более того, использование культур миобластов человека позволяет изучать характер биохимических изменений, происходящих именно у человека.

Скелетномышечные миобласты человека культивировались в среде F-12 с добавлением гентамицина, пирувата натрия и 12 % эмбриональной телячьей сыворотки до достижения монослоя, а затем инкубировались в дифференцировочной среде, содержащей 2% лошадиной сыворотки, от 2 до 10 дней. Смена среды производилась каждые 2 суток. Белки, выделенные из миобластов после инкубации в дифференцировочной среде, в день достижения монослоя, а также за 1-2 дня до его достижения, фракционировались методом двумерного электрофореза по О'Фарреллу. Детекция белков выполнялась окрашиванием красителем Кумасси R-250 и азотнокислым серебром, что позволяло выявлять до нескольких сотен белковых фракций на одной электрофореграмме. Идентификацию белков проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии с использованием пакета программ Mascot и базы данных NCBI-Protein.

Было обнаружено, что ряд белков в ходе миогенной дифференцировки претерпевает качественное и количественное изменение. Методом MALDI-TOF масс-спектрометрии они были идентифицированы как В-цепь супероксиддисмутазы, ассоциированный белок 1 рецептора липопротеинов низкой плотности, коллаген-связывающий белок 2 (продукт индуцирующего пролиферацию гена 14), митохондриальная альфа-АТФ-синтаза, бета-актин, аннексин А5, количество которых увеличивалось в первые 2-3 дня инкубации в дифференцировочной среде и далее оставалось на постоянном уровне; немышечная форма кофилина и кальций-связывающий белок S100A11, значительно уменьшающиеся в ходе дифференцировки; маннозо-связывающий лектин 2 и аннексин А1, претерпевающие незначительные количественные изменения. Также был идентифицирован ряд белков, количество которых практически не менялось при инкубации в дифференцировочной среде: тропомиозин 4, белок теплового шока-70 (изоформы 5 и 9В), дисульфидизомераза (ER-60), енолаза-1, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, А-цепь циклофилина В, а также неизвестный белок, содержащий ферритиновый и SH3 домены.

Выявленные белки могут рассматриваться как потенциальные маркеры процессов миогенной дифференцировки и, в перспективе, как молекулярные мишени при разработке новых подходов к влиянию на процессы мышечной регенерации и гипертрофии. Авторы выражают искреннюю благодарность д.б.н., проф. С.С.Шишкину и д.б.н. Л.И.Ковалеву за помощь в выполнении данной работы.

Работа выполнялась в рамках комплексного проекта ЖС-КП.6/002. «Медико-биологические технологии повышения работоспособности человека в условиях напряженных физических нагрузок».

**Полярные стероидные соединения из антарктической морской звезды
*Diplasterias brucei***

Т.В. Маляренко¹, Н.В. Иванчина², А.А. Кича², А.И. Калиновский², П.С. Дмитренко²,
Э. Молло³

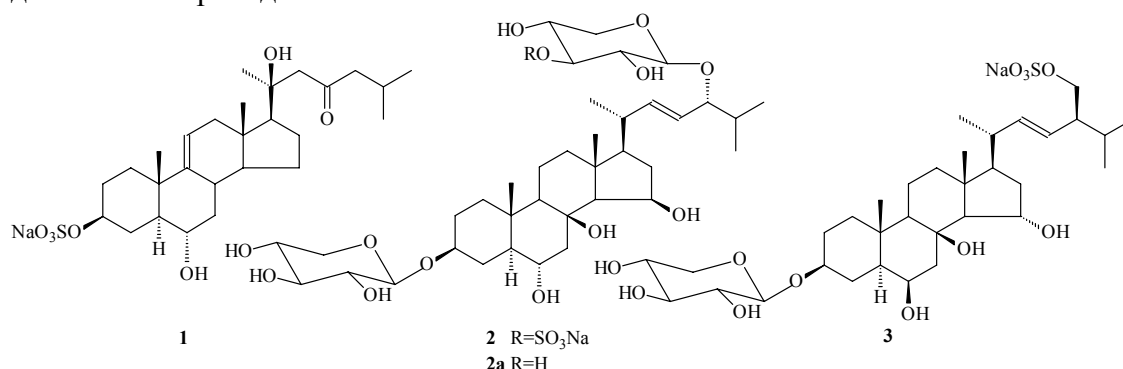
¹ Дальневосточный государственный университет

² Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН

³ Институт биомолекулярной химии, Италия

Электронная почта: ivanchina@piboc.dvo.ru

Морские звезды, в отличие от многих других морских животных, содержат высокоокисленные стероиды, встречающиеся в свободном, сульфатированном и гликозилированном виде. Продолжая наши исследования стероидных метаболитов морских звезд, мы впервые изучили полярные стероиды из антарктической морской звезды *Diplasterias brucei* (семейство Asteriidae, отряд Forcipulatida), собранной в 2000 г. у побережья моря Росса (залив Терра-Нова, Антарктика) в рамках Национальной Итальянской программы «Исследование Антарктиды».



С помощью колоночной хроматографии низкого давления на Амберлите XAD-2, сефадексе LH-20 и силикагеле, а также последующей высокоэффективной жидкостной хроматографии на колонке Zorbax ODS и рехроматографии на колонке Диасфер-110-C18 были выделены соединения **1** (12 мг), **2** (11 мг) и **3** (1.7 мг).

В результате анализа ЯМР ¹H спектров соединения **1**, а также данных MALDI/TOF(-)-масс-спектров было установлено, что выделенное соединение является нативным агликоном астеросапонинов – сульфатом торнастерина А [1].

Структуры соединений **2** и **3** были установлены с помощью ЯМР ¹H и ¹³C спектров, включая 2D ЯМР эксперименты (¹H-¹H COSY, HSQC, NOE, HMBC), а также данных MALDI/TOF(+)- и (-)-масс-спектров. Сравнение полученных нами результатов с данными, опубликованными в литературе, позволило установить, что соединение **2** является сульфатированным по C-3'' β-D-ксилопиранозного остатка стероидным биозидом астериидозидом Н, выделенным ранее из антарктической морской звезды семейства *Asteriidae* [2], а соединение **3** является астериидозидом L - стероидным ксилозидом с редкой 28-сульфоокси-Δ^{22E}-24-метилхолестановой боковой цепью, найденным ранее в той же морской звезде [2].

ЛИТЕРАТУРА

1. Finamore E., Zollo F., Minale L., Yasumoto T. // J. Nat. Prod. 1992. 55. 767.
2. De Marino S., Iorizzi M., Palagiano E., Zollo F., Roussakis C. // J. Nat. Prod. 1998. V. 61. P. 1319.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта ДВО РАН № 06-III-A-05-120, фонда CRDF (грант VL-003-1X).

Воздействие детергента “Ariel” на бентосную морскую микроводоросль *Attheya ussurensis* (Bacillariophyta)

Ж.В. Маркина

Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского Дальневосточное отделение РАН
Электронная почта: zhannav@mail.ru

Детергенты относятся к загрязняющим агентам особой экологической опасности, нарушающими функционирование экосистемы в целом. В первую очередь это проявляется в их действии на одноклеточные водоросли, являющиеся поставщиками кислорода в водную среду и первичными продуцентами. На сегодняшний день проведено много экспериментов по исследованию действия детергентов на морские планктонные микроводоросли, а бентосные микроводоросли, также играющие важную экологическую роль, в данном плане остаются практически неизученными.

В связи с вышеизложенным цель работы состояла в изучении влияния применяемого в быту детергента “Ariel” на бентосную микроводоросль *Attheya ussurensis*.

Объектом исследования служила морская бентосная одноклеточная водоросль *Attheya ussurensis* (Bacillariophyta), выделенная из Уссурийского залива Японского моря. Культуру водоросли выращивали в питательной среде *f* (Guillard, Ryther, 1962). Культивирование проводили при освещении люминесцентными лампами интенсивностью 70 мкмоль/(м² × с) со светотемновым периодом 12 ч свет: 12 ч темнота. Продолжительность экспериментов – 14 сут. В опытах исследовали влияние детергента “Ariel” в концентрациях 0.1, 1 и 10 мг/л. Контролем (100%) служила суспензия водорослей, выращенная в чистой среде. Клетки подсчитывали в счетной камере типа Ножотта объемом 0.044 мл. Измерение рН культуральной среды проводили с помощью рН-метра HI 8314 фирмы Hanna. Уровень содержания фотосинтетических пигментов определяли стандартным методом (Вода..., 1990).

Численность клеток при добавлении 0,1 и 1 мг/л токсиканта была ниже таковой в контроле до 7-х сут экспозиции, а к концу опыта она возрастала до контрольной. Однако при содержании 1 мг/л детергента отмечено большее ингибирование роста микроводоросли. Увеличение концентрации детергента до 10 мг/л вызывало длительную лаг-фазу.

При концентрациях 0.1 и 1 мг/л детергента “Ariel” рН культуральной среды существенно не отличалась от таковой в контроле на всем протяжении опыта. При содержании 10 мг/л токсиканта она была значительно ниже контрольной в течение 7-ми сут, а к концу опыта отмечено увеличение данного параметра.

Содержание хлорофилла *a* при добавлении 0.1 и 1 мг/л токсиканта снижалось ко 2-м сут экспозиции, а к 7-м было выше такового в контроле. Внесение 10 мг/л детергента вызывало существенное снижение количества хлорофилла *a* и дальнейшем оно не увеличивалось.

Количество каротиноидов при концентрациях 0.1 и 1 мг/л детергента “Ariel” практически не отличалось такового в контроле в течение всего опыта, а при внесении 10 мг/л детергента снижалось в начале опыта и не достигало контрольного уровня.

Таким образом, влияние детергента “Ariel” на *A. ussurensis* возрастало с увеличением его концентрации. Наиболее чувствительной к воздействию токсиканта оказалась численность клеток, наименее – рН культуральной среды, содержание хлорофилла *a* и каротиноидов. Можно предположить, что как низкое (0.1 и 1 мг/л), так и высокое содержание детергентов в морской среде могут привести к негативным последствиям в природных экосистемах. Микроводоросли – кормовая база для организмов-фильтраторов и личинок беспозвоночных, следовательно изменение количества клеток водорослей и содержания фотосинтетических пигментов под воздействием токсиканта, по-видимому, может вызвать нарушение питания животных и их гибели, а также ухудшение гидрологического режима акваторий.

Фунгицидная активность структурных аналогов природных циклопентеновых β,β' -трикетонов

Е.А. Мартыяс

Дальневосточный государственный университет
Тихоокеанский институт биоорганической химии, ДВО РАН
e-mail:martyiyas@inbox.ru

Моноциклические 2-ацилциклопент-4-ен-1,3-дионы типа **(3)** (циклопентеновые β,β' -трикетоны) встречаются в природе и образуют уникальную группу вторичных метаболитов высших растений [1-5]. Фунгицидное действие свободных трикетонов этого типа не изучалось, а для одного из природных енольных эфиров циклопентеновых β,β' -трикетонов – корусканона А, обнаружена высокая активность в отношении патогенных грибов *Candida albicans* и *Cryptococcus neoformans* [4].

В течении последних 30 лет в ТИБОХ ДВО РАН проводились широкие исследования по синтезу и реакционной способности близких структурных аналогов природных циклопентеновых β,β' -трикетонов, в результате чего получено большое число моно-, би-, три- и тетрациклических циклопентеновых β,β' -трикетонов. Изучение биологического потенциала этих соединений позволило обнаружить у многих из них высокую антимикробную активность, цитотоксическое действие на эмбрионы морского ежа *Strongylocentrotus intermedius* и клетки карциномы Эрлиха, а также рострегулирующее действие на проростки *Cucumis sativus L.* и *Fagopyrum esculentum Moench*.

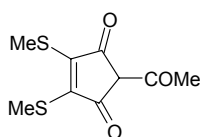
Отмеченные биологические свойства делают интересным расширение исследований по изучению биологического потенциала синтетических β,β' -трикетонов.

Нами была изучена фунгицидная активность 42 циклопентеновых β,β' -трикетонов, разнообразного строения с целью установления взаимосвязи «структура – активность».

Для биотестирования использовали грибы *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysperum* и *Candida albicans*, культивируемые при pH 6.0 в твердой питательной среде «Сабура» следующего состава (г/л): глюкоза — 30, пептон – 10, агар – 20.

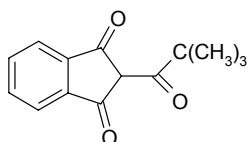
Наибольшую чувствительность к действию трикетонов проявили грибы *Aspergillus niger*, а для двух других (*Fusarium oxysperum*, *Candida albicans*) она была значительно меньше и примерно одинакова.

Среди изученных соединений наиболее активными оказались **(3)**, **(14)** и **(32)**, значения МИК₁₀₀ которых и ширины зоны ингибирования на диске приведены ниже под структурными формулами.



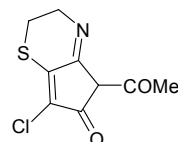
(3) *Aspergillus niger*

0,2 мг/мл, 5 мм



(14) *Aspergillus niger*

0,2 мг/мл, 1 мм



(32) *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysperum*, *Candida albicans*

0,2 мг/мл, 5-6 мм

Выявленные активные соединения представляют интерес для дальнейшего углубленного изучения их фунгицидного действия.

[1] Birch A.J. J. Chem. Soc. 1951. P.3026. [2] Kiang A.K. et al. J. Chem. Soc.1962. P. 4338. [3] Lee H.H. Tetrahedron Lett. 1968. V. 9. P. 4243. [4] Li X.-C. et al. J. Am. Chem. Soc. 2004. V. 126. P. 6872. [5] Facundo V.A. et al. J. Braz. Chem. Soc. 2004. V. 15. P. 140.

Генетический анализ популяций Сибирского белого журавля (*Grus leucogeranus Pall.*)

Н.Ю. Маслобоева

Институт химической биологии и фундаментальной медицины

Сибирское отделение РАН

Электронная почта: nadya-mas@mail.ru

Сибирский белый журавль или стерх (*Grus leucogeranus Pallas*), эндемичный для России вид, внесен в Международную Красную книгу Птиц Азии как вид близкий к исчезновению. Места гнездования стерха расположены в двух областях Восточной и Западной Сибири. Относительно стабильная Восточная популяция в настоящее время насчитывает около 2500 птиц. Численность популяции стерха Западной Сибири катастрофически сократилась с 200 особей в 1964 году до 13 особей к 2001. Для создания эффективной стратегии охраны и восстановления этой популяции стерха необходимо оценить ее генетическое разнообразие, используя различные маркеры. Цель работы состояла в изучении полиформизма фрагмента D-петли митохондриальной ДНК (мтДНК, 513 п.н.) и микросателлитного локуса ядерной ДНК (187 п.н.) представителей Западной и Восточной популяций для оценки генетического разнообразия и установления степени генетической дивергенции между популяциями.

Исследована выборка из 23 журавлей, включающая 19 особей, происходящих из Восточной, и 4 – из Западной популяции. Образцы крови 17 стерхов были получены из Окского государственного биосферного природного заповедника, в котором содержатся птицы, произошедшие из этих популяций. ДНК 6 стерхов, живших в 80-е годы, получены из коллекции Института биологии гена РАН (Москва).

С помощью автоматического секвенатора определены последовательности нуклеотидов микросателлитного локуса исследуемых стерхов. Идентифицировано 5 аллелей, отличающихся по 3 позициям делецией (вставкой) нуклеотида. Характерных для Западной популяции аллелей не выявлено, в выборке из этой популяции представлены 3 аллельных варианта, наиболее частые для выборки стерхов Восточной популяции. Это показывает низкую степень дивергенции между популяциями.

Определены нуклеотидные последовательности участка варибельной области (D-петли) длиной около 500 н.п. мтДНК каждого образца. Сравнением последовательностей выявлено 16 варибельных сайтов, формирующих 11 вариантов комбинирования (гапловариантов, SC 1-11), из которых 8 принадлежат Восточной, 2 (SC 7 и SC 8) – Западной, а 1 (SC 3) является общим для обеих популяций. Два гапловарианта (SC 10 и SC 11) были определены только у стерхов из коллекции ИБГ РАН, не обнаружены среди птиц, живущих в заповеднике. Это может означать утрату данных вариантов мтДНК генофондом популяций. По принципу минимального числа элементарных мутационных событий была построена сеть гапловариантов исследованных стерхов. Анализ сети выявил небольшую степень дивергенции между популяциями, что дает основания использовать особей Восточной популяции для восстановления Западной популяции. При выборе стерхов для сохранения генетического разнообразия Западной популяции необходимо отдавать предпочтение особям этой популяции с гапловариантами SC 7 и SC 8. Для увеличения численности – особям Восточной популяции с гапловариантом SC 3, общим для популяций.

Использование единичных клеток для изучения судьбы родительских митохондрий в эмбриональных гибридных клетках мыши

А.Г. Мензоров, Н.М. Матвеева, О.Л. Серов
Институт цитологии и генетики СО РАН
Электронная почта: menzorov@bionet.nsc.ru

Известно, что эмбриональные стволовые (ЭС) клетки обладают высокими плюрипотентными свойствами и этот потенциал может быть использован для репрограммирования генома дифференцированных клеток путем образования гибридных клеток *in vitro*. При слиянии ЭС клеток с дифференцированными клетками происходит объединение не только ядерных геномов, но и цитоплазмы родительских клеток. Процесс формирования цитоплазмы эмбриональных гибридных клеток оказался вне поля зрения исследователей. Остается неясным, каков вклад родительских реплицирующихся структур, таких как митохондрии, в организацию цитоплазмы гибридных клеток.

Целью данной работы является анализ митохондриальной ДНК (мтДНК) у внутривидовых гибридных клонов, полученных слиянием ЭС клеток мышей линии 129/Ola со спленоцитами и фетальными фибробластами линии DD/c, и у набора клонов межвидовых гибридных клеток, полученных слиянием ЭС клеток *Mus musculus* со спленоцитами *M. caroli*. В данном случае мтДНК выступает как маркер структуры цитоплазмы родительских клеток.

Анализ мтДНК внутри- и межвидовых гибридных клонов типа ЭС-спленоцит присутствие мтДНК только плюрипотентного партнера в 20 клонах гибридных клеток из 23. В противоположность этому, пять клонов, полученных от слияния с фетальными фибробластами, содержали мтДНК как плюрипотентного, так и соматического партнера.

Для того чтобы понять закономерности сегрегации родительских мтДНК нами был проведен анализ мтДНК индивидуальных клеток двух межвидовых гибридных клонов от слияния ЭС клеток и спленоцитов. Единичные клетки переносили с помощью стеклянного микрокапилляра в капли буфера в чашке Петри, последовательно промывали в пяти каплях буфера и переносили в пробирку с лизирующей смесью, после чего проводили лизис клеток и ПЦР. Анализ 31 клетки клона НМС4 и 32 клеток клона НМС27, выявил гетерогенность по соотношению родительских мтДНК. Клетки можно условно разделить на три типа – с видимым преобладанием мтДНК плюрипотентного партнера, с видимым преобладанием мтДНК соматического партнера и с примерно равной долей обоих родительских мтДНК. В клоне НМС4 наблюдали 10 клеток с преобладанием мтДНК плюрипотентного партнера, 11 – соматического и 10 – с присутствием обоих родительских мтДНК. В клоне НМС27 наблюдали 20 клеток с явным преобладанием мтДНК плюрипотентного партнера и 12 клеток, содержащих примерно равное соотношение мтДНК обоих родительских видов.

Анализ 18 клеток клона HESF4, полученного от слияния ЭС клеток и фетальных фибробластов, показал сохранение мтДНК обоих типов во всех исследованных клетках.

Можно предположить влияние нескольких факторов на сегрегацию митохондрий одного из родителей: (1) различное количество митохондрий в родительских клетках, и, как следствие, сегрегация митохондрий, представленных в небольшом количестве; (2) различная скорость репликации митохондрий разного происхождения в первые несколько делений гибридной клетки; (3) различия в последовательностях D-петли мтДНК. Анализ сегрегации мтДНК в индивидуальных клетках позволяет предположить, что при формировании гибридных клеток типа ЭС-спленоцит происходит «быстрая» сегрегация митохондрий спленоцитов на ранних пассажах культивирования и случайная сегрегация на поздних. Что касается гибридных клеток типа ЭС-фибробласт, мы не наблюдаем предпочтительную сегрегацию митохондрий какого-либо партнера по слиянию.

Изучение биологической активности тритерпеновых гликозидов голотурий

А.О. Миронова¹, А.С. Сильченко², С.А. Авилов², И.Г. Агафонова², Д.Л. Аминин²

¹Дальневосточный государственный университет

²Тихоокеанский институт биоорганической химии, ДВО РАН

Электронная почта: volchitsa245@yandex.ru

Целью исследования было изучение биологической активности серии тритерпеновых гликозидов из голотурий *Cucumaria frondosa*, *C. okhotensis* и *C. japonica*. Изучалась активность индивидуальных соединений: охотозида А₁-1 (1), изокореозид А (8) и его десульфатированного производного (2), группы фрондозидов - А₂-6 (3), А₂-4 (4) и А₂-7 (5), а также кукумариозидов А₂-2 (6) и А₀-1 (7). Кроме того, тестировалась активность препарата Кумазид (9), созданного на основе гликозидов голотурии *Cucumaria japonica*. Ранее было показано, что некоторые из этих соединений обладают иммуномодулирующей активностью, однако молекулярные механизмы, лежащие в основе этой активности до сих пор остаются не выясненными.

В качестве клеточной модели для исследования цитотоксической и цитостатической активностей использовали развивающиеся эмбрионы морского ежа *Strongylocentrotus nudus*. Количество эмбрионов, развившихся до стадии 8 бластомеров в присутствии тестируемых соединений, оценивалось с помощью инвертированного микроскопа. С помощью техники молекулярных флуоресцентных зондов и флуоресцентной спектроскопии было изучено влияние препарата Кумазид на некоторые внутриклеточные мишени, а именно: на лизосомальную активность, формирование активных форм кислорода, транспорт ионов кальция, активность неспецифической эстеразы и конденсацию хроматина. В качестве тест-систем использовали перитониальные макрофаги, лимфоциты селезенки и асцитную карциному Эрлиха мышей. Полумаксимальные эффективные концентрации рассчитывали графически с помощью компьютерной программы SigmaPlot 3.02 (Jandel Corporation, США).

Анализ результатов цитотоксического действия исследуемых соединений показал, что их активности можно расположить в следующем ряду: кукумариозид А₀-1 > охотозид А₁-1 > кукумариозид А₂-2 > фрондозид А₂-4 > фрондозид А₂-7 > фрондозид А₂-6 > DS-изокореозид А > изокореозид А > Кумазид (см. таблицу).

Таблица. Влияние тритерпеновых гликозидов из голотурий и препарата Кумазид на развитие эмбрионов морского ежа *Strongylocentrotus nudus*. Указана полумаксимальная эффективная концентрация (EC₅₀) в мкг/мл.

№ вещества	1	2	3	4	5	6	7	8	9
EC ₅₀ , мкг/мл	0,1	15,9	1,57	0,64	1,53	0,45	0,07	24,2	>100.

Было показано, что препарат Кумазид в диапазоне концентраций 0.01-100 мкг/мл не обладает цитотоксической активностью, не влияет на транспорт кальция и активность неспецифической эстеразы. В то же время показано, что Кумазид вызывает индукцию апоптоза (EC₅₀=52 мкг/мл) в клетках асцитной карциномы Эрлиха, стимулирует лизосомальную активность макрофагов в диапазоне 0,05-0,1 мкг/мл и оказывал стимулирующее влияние на формирование активных форм кислорода (перекиси водорода и синглетного кислорода) в мышинных перитонеальных макрофагах в интервале концентраций от 0,1 мкг/мл до 25 мкг/мл.

Таким образом, данные соединения способны блокировать клеточное деление интенсивно делящихся клеток (эмбрионы морского ежа), а при увеличении концентрации в инкубационной среде приводить к лизису и гибели этих клеток. В то же время, для Кумазида показано, что он оказывает влияние на активность некоторых внутриклеточных биомаркеров.

Работа выполнена при поддержке фонда CRDF (грант VL-003-1X).

Отечественные и зарубежные компьютерные программы в создании новых лекарственных средств и прогнозировании их свойств.

И.Э. Памирский, Р.А. Блоцкий, М.А. Штарберг
Амурская государственная медицинская академия

Большинство соединений, попадая в организм, проявляет несколько видов биологической активности. Опытным путем тестировать множество веществ на все механизмы действия очень сложно, а весь процесс создания лекарственного средства (поиск вещества, испытания *in vivo* и *in vitro*, испытания в клинике) является дорогим и трудоемким. В силу этого многие эксперименты являются недоступными. Компьютерные методы намного ускоряют поиск ЛС необходимого спектра действия, с существенным сокращением материальных затрат, и представлены в виде программ по молекулярному моделированию (дизайну), PASS, ONIX (отечественные), 3D-QSAR, Sybyl, Tripos, Procheck (иностраные) и др. В нашей стране работы по дизайну ЛС объединены в рамках направления 04 «Компьютерное конструирование новых лекарственных средств».

Программы позволяют: прогнозировать вероятный спектр биологической активности (около 1000 видов активности) (3D-MATRIX, PASS); осуществлять поиск соединения с необходимым свойством, а также веществ комбинированного действия с распределением установленных свойств; отсеивать «ненужные» соединения (GenMesh); подбирать соединения-гомологи; моделировать разные структурные уровни молекул, их активных центров и других участков (GRID, DOCK); идентифицировать элементы вторичной структуры (ProTable); сравнивать пространственные структуры молекул и их отдельных участков (COMPOSER); генерировать конформеры (MULTISEARCH, 3DGEN, OASIS); моделировать взаимодействие лиганда с макромолекулой-мишенью; анализировать количественно-качественные взаимосвязи «структура-активность» (PASS, QSAR, QSMR); проводить энергетическую оптимизацию (MOPAC) и моделировать молекулярную динамику моделей молекул и комплексов соединений (LeapFrog, Verlet, Amber, Gromacs, Tinker) и т.д.

Механизм поиска и прогнозирования основан на использовании структурной формулы химического соединения, выявлении взаимосвязи свойств молекулы с расположением ее определенных заместителей в пространстве, сравнительном анализе молекулярных полей, молекулярно-графическом анализе трехмерной модели макромолекулы-мишени (ONIX, DTMM), выявления стерических конфликтов и правильности фолда, анализе и сопоставлении баз данных (скрининговые библиотеки включают готовые модели молекул и их участков). Возможно, одновременно изучать несколько тысяч молекул (низко- и высокомолекулярных веществ) с учетом заданных требований.

Разработаны комплексы алгоритмов, модулей – пакеты - направленные на решение многосторонних задач (Insight, Modeller, Tripos и др.). Имеются интернет-версии пакетов программ, и их компонентов. 3D-QSAR, PASS, GenMesh <http://www.ibmh.msk.su/>; Tripos <http://www.tripos.com/>; DockSearch, ONIX <http://imgdd.ibmh.msk.su/>. В дополнение разработано вспомогательное обеспечение для поиска в базах данных (Caveat, Clix, Ludi). Работа с данными программами компьютерного дизайна требует знания определенной терминологии (скрининг, докинг, фолдинг, молекулярные дескрипторы и т.д.) и языка структурированных запросов (например SQL).

Данные такого рационального компьютерного конструирования позволят проводить более направленный синтез химических соединений при поиске ЛС различного действия. Учитывая новые стандарты медицинских исследований прописанных в Хельсинской декларации (кодекс этических принципов медицинских исследований проводимых на человеке), данные биоинформационные методы наиболее актуальны для решения этой задачи. Кроме того, область применения компьютерного дизайна может способствовать исследованиям по изучению механизмов действия биологически активных веществ, по расшифровке последовательности белков, сравнению геномов, предсказанию функции генов, непосредственно на рабочем месте биохимика или фармацевта.

Синтез 7-хлор-5-фенил-3-метил-1,2-дигидро-2Н-1,4-бенздиазепин-2-она

О.О. Писаренко, Е.В. Аверьянова

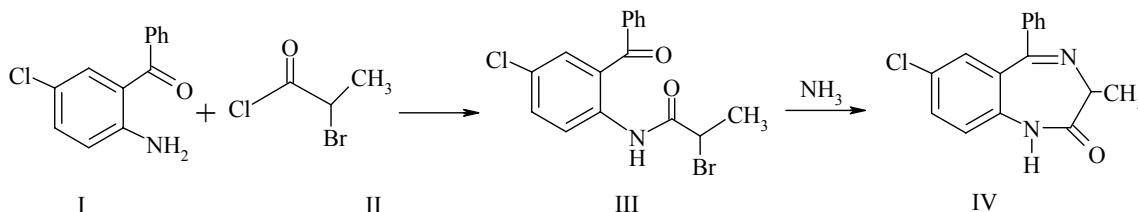
Бийский технологический институт (филиал)

Алтайского государственного технического университета им. И.И. Ползунова

Электронная почта: lana@bti.secna.ru

Целью данного исследования является изучение возможности получения C³-алкилированных 7-хлор-5-фенил-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов. Поскольку в структуре 7-хлор-5-фенил-2Н-1,4-бенздиазепин-2-она метиленовая группа активирована с одной стороны хлором в положении 7, а с другой – иминной связью в положении 4 и 5, то можно ожидать, что подобные соединения будут достаточно легко вступать в реакции С-алкилирования по положению 3:

Однако, использование незамещенного в положении 1 1,4-бенздиазепин-2-она в реакции С-алкилирования невозможно из-за конкурирующей реакции N-алкилирования. Поэтому нами была рассмотрена возможность получения целевого продукта по описанному в литературе способу синтеза фармацевтического препарата «Нитразепам» [1], а именно ацилированием 2-амино-5-хлорбензофенона α-бромпропионилхлоридом с последующей циклизацией полученного амида в 1,4-бенздиазепин-2-он согласно схеме:



Таким образом были получены амид III с выходом 99,8 %; Тпл. = 53-54 °С (из нефраса) и 1,4-бенздиазепин-2-он IV с выходом 60 %; Тпл. = 219-220 °С (из пропанола-2). Для обоих соединений проведен элементный анализ, сняты ИК и УФ спектры.

Список литературы

1. Sternbach L., Fryer R., Metlesics W. // J. Org. Chem. 1962. V. 27. P. 3788-3790.

Инструментальный нейтронно-активационный анализ благородных металлов

С.А. Сарин

Институт химии ДВО РАН, Владивосток-22, Столетия 159,

Электронная почта: zveroboy82@mail.ru

Определение золота и платиноидов является актуальной задачей на этапах разведки, освоения минерального сырья и вовлечения в переработку техногенного сырья, содержащего указанные благородные металлы (БМ). В Дальневосточном регионе в последние годы активно ведутся работы по изучению новых типов объектов, в т.ч. в углеродосодержащих толщах, в отвалах золотодобычи и др. в которых отмечаются повышенные концентрации БМ.

В ряде указанных объектов БМ находятся в мелкой, тонкодисперсной форме, что ограничивает применение традиционных аналитических методов, из-за возможности образования летучих продуктов на этапах химической и термической обработки образца и зачастую из-за недостаточной представительности исследуемых образцов.

В этих условиях более предпочтительными являются инструментальные, в т.ч. нейтронно-активационные методы анализа (НАА). Нейтронно-активационные комплексы, типа УНАА с источниками Cf-252, разработанные нами, широко применялись на этапах разведки месторождений Дальнего Востока и Китая [1,2].

Для изучения вышеуказанных объектов в ИХ ДВО РАН создан новый нейтронно-активационный аналитический комплекс с выходом $8 \cdot 10^8$ нейтр/с., в активной зоне которого может облучаться одновременно до 30 проб массой по 20-150г. НАА обеспечивает достаточную представительность даже для объектов с высокой неравномерностью с полным исключением возможности образования летучих продуктов. Активная зона установки выполнена из углеродсодержащих материалов, что позволяет снизить влияние на пространственно-энергетические поля нейтронов углерода, содержащегося в материале проб.

В золотосодержащих объектах анализ выполняется с Ge-Li-детектором по линии с $E_\gamma=411.8$ кэВ изотопа Au¹⁹⁸ (период полураспада $T^{1/2}=64$ час.) образующегося в процессе активации. Основными фонообразующими элементами в указанных объектах являются Na, Mn, Co, в меньшей степени As, характерный для многих золоторудных месторождений региона. В ряде объектов отмечается содержание серебра и иных промышленно-полезных элементов (Cr, Sc, Fe, Co, Na). Предел обнаружения золота составляет 0.1-0.2 г/т.

Наряду с золотом перспективным является инструментальное определение иридия, обладающего достаточно высокими сечениями активации в спектрах тепловых (700 б.) и эпитепловых нейтронов (4100 б.). В объектах Талнахского горного узла при длительном режиме облучения в спектре выделяются линии ¹⁹²Ir с энергией $E_\gamma=295.9, 308.4, 316.5$ кэВ. Основными фонообразующими элементами с близкими аналитическими линиями могут быть ⁶⁰Co, ¹⁴⁰La и ⁵¹Cr, образующиеся при высоких содержаниях этих элементов. Одним из путей снижения фона является подавление тепловой части потока нейтронов, т.к. у фонообразующих элементов соотношение сечений активации в тепловом и эпитепловом спектрах выше чем у иридия (Ir - $\sigma_{th}/\sigma_{epi}=0,17$; Co- $\sigma_{th}/\sigma_{epi}=0,27$; Cr- $\sigma_{th}/\sigma_{epi}=1,35$). Дополнительным резервом снижения предела является использование комплексных (Cd-Co-Cr)-фильтров, предложенных нами ранее [3]. В этих условиях можно прогнозировать достижение предела обнаружения для $Ir C_{lim}=0.1$ г/т.

Работа выполнена при поддержке гранта ДВО РАН 06-1-ОХНМ-132.

1. Shilo N.A., Ivanenko V.V., Kustov V.N. et.al «J.of Radio.Chem.», 1983, v.79, p.309-314
2. Кустов В.Н., Иваненко В.В. «Атомная энергия», 1985, т.58, в.1, с.55-57
3. Иваненко В.В., Кустов В.Н. Патент РФ № 2133987, 1999.

Изучение связывания лектина CGL, выделенного из мидии *Crenomitilus grayanus* со штаммами грибов, высеянных из этой же мидии.

Е.Н. Сигида, Е.А. Мартыяс, О.И. Ивчук, И.В. Чикаловец*

Дальневосточный государственный университет

**Тихоокеанский институт биоорганической химии Дальневосточное отделение РАН*

Электронная почта: si_elena@mail.ru

Лектины – это общее название белков и гликопротеинов, связывающих моно- и олигосахариды, специфически их распознавая. В настоящее время морские беспозвоночные относятся к числу сравнительно новых источников лектинов различной специфичности. Изучения по физиологической роли лектинов у беспозвоночных показали, что они могут участвовать в транспорте кальция и углеводов, осуществлять контроль над клеточной адгезией. Предполагают, что лектины вовлечены в неспецифические иммунные реакции (агглютинция, опсонизация, фагоцитоз, инкапсуляция и лизис).

Ранее в лаборатории химии неинфекционного иммунитета ТИБОХ ДВО РАН был выделен и охарактеризован лектин CGL из мидии *Crenomitilus grayanus*, специфичный к галактозе и N-ацетилгалактозамину. Целью нашей работы было установление связывания данного лектина и штаммов грибов, выделенных из одного и того же биологического объекта и по этим данным сделать выводы о том, являются эти грибы патогенными или симбионтными для данной мидии.

Из разных органов мидии *Crenomitilus grayanus* впервые было высеяно 7 штаммов грибов, которые культивировались в течение недели. Из штаммов были приготовлены суспензии спор и мицелия, концентрацию которых оценивали по оптической плотности при $\lambda=700$ нм.

При подборе условий для постановки эксперимента наилучшие результаты были получены при адсорбции суспензии спор на 96-луночный планшет в течение 2 часов при 37°C с последующим прогреванием их в течение 50 минут при температуре 75°C.

Суспензии спор адсорбировали на 96-луночный планшет. Свободные места забивали бычьим сывороточным альбумином (BSA). На планшет с адсорбированными спорами двойными разведениями раститровывался конъюгат CGL, меченный ферментной меткой пероксидазой (ПХ). После инкубации в течение часа при 37°C определяли ферментативную активность, пропорциональную количеству связавшегося лектина, добавлением субстрата о-фда и измеряли оптическую плотность при $\lambda=492$ нм. В качестве контроля CGL-ПХ раститровывали на планшет с адсорбированным BSA.

Было показано, что наблюдается концентрационно зависимое связывание лектина CGL со штаммами 1, 2, 3 и 4. Взаимодействие CGL-ПХ со штаммами 8, 9 и 11 было на уровне контроля (BSA).

Для выяснения характера связывания лектина на адсорбированные споры мы раститровывали раствор галактозы, которая является специфичным моносахаридом для CGL, и одновременно добавили конъюгат CGL-ПХ в одинаковой концентрации. Для штаммов 1-4 наблюдалось 50% ингибирование связывания, что свидетельствует об углевод-белковом взаимодействии.

В результате проделанной работы можно сделать вывод о том, что лектин CGL связался с четырьмя штаммами грибов, которые, вероятно, являются патогенными для мидии *Crenomitilus grayanus*. Остальные 3 штамма, возможно, являются симбионтными. Однозначный вывод о защитной функции лектина можно сделать при проведении эксперимента по культивированию штаммов грибов в присутствии CGL.

Работа выполнена при поддержке фонда CRDF (грант VL-003-1X).

Низкомолекулярный иммуноглобулинсвязывающий белок из *Yersinia pseudotuberculosis*.

Е.В. Сидорин, Н.Ю. Ким, С.Д. Анастюк, Г.А. Набережных, Т.Ф. Соловьева
Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН
Электронная почта: sev-1972@yandex.ru

Одним из важных факторов вирулентности целого ряда бактериальных патогенов являются иммуноглобулинсвязывающие белки (ИСБ). Считается, что неиммунное связывание иммуноглобулинов с клетками через ИСБ защищает бактерию от действия комплемента [1,2], уменьшает их опсонизацию и фагоцитоз, что, в конечном итоге, позволяет микроорганизмам избежать воздействия иммунной системы хозяина [1-4].

Из клеток *Yersinia pseudotuberculosis* выделен и частично охарактеризован низкомолекулярный ИСБ, связанный с клеточной оболочкой бактерий. Показано, что ИСБ является гидрофильным белком с высоким индексом полярности 55,3 % (Таблица 1). Методом масс-спектрометрии MALDI-TOF, определена молекулярная масса белка равная 14,3 кДа. По данным КД-спектра ИСБ содержит высокий процент β - и неупорядоченной структуры (Таблица 2). В качестве N-концевой аминокислоты ИСБ содержит глицин. Белок может храниться длительное время при кислых значениях pH буфера, но агрегирует с потерей активности при основных и нейтральных значениях pH. ИСБ связывает IgG кролика с оптимумом pH связывания в области 6,0-7,5. С молекулой IgG ИСБ взаимодействует в области Fc-фрагмента. Белок сохраняет активность после прогревания при 100 °C в присутствии Ds-Na.

Таблица 1. Данные аминокислотного анализа низкомолекулярного ИСБ из *Y. pseudotuberculosis* для расчета индекса полярности по методу Капальди [5].

Аминокислоты полярные	Мольные %	Аминокислоты, промежуточные между гидрофильными и гидрофобными	Мольные %
Lys	7,1	Thr	6,4
Arg	6,6	Ser	8,3
Asx	18,2	Tyr	4,9
Glx	10,2	His	2,7
Всего	42,1	Gly	4,0
		Всего	26,4
		Полусумма	13,2
		Индекс полярности белка	55,3

Таблица 2. Содержание элементов вторичной структуры низкомолекулярного ИСБ из *Y. pseudotuberculosis*, рассчитанные по КД-спектру.

Образец в 50 mM натрий-ацетатном буфере pH 4,0.	α спираль, %	β структура, %	β изгиб, %	Неупорядоченная структура, %
ИСБ	6	29	19	46

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kihlberg, B.-M., Collin, M., Olsén, A., and Bjorck, L. // *Infect. Immun.* 1999, V. 67, P. 1708-1714.
2. Tolo, K., and Helgeland, K. // *Oral. Microbiol. Immunol.* 1991, V. 6, P. 373-377.
3. Widders, P.R. in *Bacterial Immunoglobulin-Binding Proteins: Microbiology, Chemistry, and Biology* (Boyle, M., ed.): Acad. Press Inc. 1991, San Diego, P. 375-396.
4. Widders, P.R., Dorrance, L.A., Yarnall, M., and Corbeil, L.B. // *Infect. Immun.* 1989, V. 57, P. 639-642.
5. Capaldi, R., and Vandercooi, G. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1972, V. 69, P. 930-932.

Использование компьютерных программ для расчетов антигенных детерминант порообразующих белков наружной мембраны патогенных иерсиний

О.В. Сидорова¹, О.Ю. Портнягина², М.П. Исаева², К.В. Гузев², О.Д. Новикова²
¹Дальневосточный государственный университет

²Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток, Россия
Электронная почта: olga_ximik@mail.ru

Основой для создания пептидных антибактериальных вакцин и диагностических тест-систем является способность пептидных фрагментов белков стимулировать иммунный ответ. Особый интерес представляют пептиды, которые вызывают образование специфических антител без конъюгации с инертным белковым носителем. В последние годы в результате интенсивных научных исследований стали доступны различные компьютерные программы для предсказания, на основании аминокислотной (АК) последовательности белка, антигенных (АГ) детерминант, в том числе сайтов связывания с Т-хелперами.

Для выявления общих антигенных детерминант патогенных для человека иерсиний использовались программы **ProPred**, **SYFPEITHI** и **RANKPEP**. Расчеты проводились для различных аллелей человеческих лимфоцитов HLA-DR (B1_0101; B1_0301; B1_0401; B1_7401; B1_0801; B1_1101; B1_1301; B1_1501; B5_0101). Сайты связывания с человеческими лимфоцитами были предсказаны для OmpF-подобных поринов наружной мембраны (НМ) возбудителей псевдотуберкулеза *Yersinia pseudotuberculosis* (UniProt KB/Tr EMBL Q5EMM5), кишечного иерсиниоза *Y. enterocolitica* и чумы *Y. pestis*. (Swiss-Prot Q8ZG94). АК последовательности поринов *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* ранее были определены нами из нуклеотидной последовательности белка [1]. Используемые для расчетов программы позволили предсказать для каждой аллели лимфоцитов от 1 до 11 пептидов вышеуказанной специфичности в составе АК последовательности поринов иерсиний. Обнаружено, что, в среднем, 13% АГ детерминант приходится на участки, соответствующие внешним петлям поринов. Среди них, в свою очередь, 46% приходится на петлю L₃, 36% - на петлю L₂, по 9% - на петли L₄, L₆, L₇, и L₈. Пептиды, соответствующие трансмембранным β-тяжам поринов, составляют, в среднем, 69% от общего количества рассчитанных антигенных сайтов. Очевидно, несмотря на то, что петли поринов известны как потенциальные мишени для взаимодействия с бактериофагами, бактериоцинами и субкомпонентами комплемента, основные сайты связывания с клетками иммунной системы расположены в наиболее консервативных участках белковой молекулы.

Для некоторых аллелей лимфоцитов были выявлены участки АК последовательности исследуемых поринов, предсказанные по всем трем программам, процент совпадений составил от 14% до 50% пептидов. Для аллели DRB5_01 для всех трех OmpF-подобных поринов был выявлен один пептид со 100%-ным совпадением по трем программам. Наибольшее количество рассчитанных сайтов связывания выпало на участок АК последовательности порина с 218 по 349 остаток, включающий 10-й, 11-й, 12-й, 13-й, 14-й, 15-й β-тяжи и петли L₆, L₇ и L₈. Мы предполагаем, что пептиды, соответствующие вышеуказанным участкам, наиболее перспективны для дизайна вакцинных препаратов и для разработки диагностических тест-систем нового поколения.

1. Гузев К.В., Исаева М.П., Новикова О.Д., Соловьёва Т.Ф., Рассказов В.А. // Биохим. 2005. Т. 70. Вып. 10. С. 1338-1345.

Данная работа поддержана грантом в рамках выполнения Комплексной программы Президиума РАН «Фундаментальные науки-медицине»

Микобиота аквапочв стоковой линзы р. Амур (Сахалинский залив, о. Сахалин)

Н.Н. Слинкина

Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН
Электронная почта: sheflera@bk.ru

Интерес к акватории Сахалинского залива, где ранее не проводились микологические исследования, вызван его особыми гидрологическими условиями. Последние определяются наличием в восточной части залива стоковой линзы р. Амур, где происходит значительное распреснение вод залива и вынос биогенных элементов, накапливающихся в придонном слое. Такие условия существенно влияют на формирование грибных комплексов, которые также чувствительны к содержанию в среде различных поллютантов, попадающих в залив с речным стоком.

В данном районе было выявлено 75 видов мицелиальных грибов, относящихся к 30 родам. Микобиота представлена в основном видами анаморфных грибов (84%) из родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Acremonium*, *Chrysosporium*, *Beauveria*, *Cladosporium*, *Wardomyces* и др.; незначительная часть (14%) приходится на сумчатые грибы, среди которых выявлены представители родов *Eurotium*, *Emericellopsis*, *Chaetomium*, *Pseudeurotium*, среди редко встречаемых – виды родов *Monascus*, *Pithoascus*, *Preussia*, *Sphaerodes*. Наиболее массовыми оказались виды *Emericellopsis glabra*, *Pseudeurotium ovale var. ovale* и *Chaetomium globosum*, из которых наиболее встречаемым видом в восточной части залива является *E. glabra*. Из анаморфных грибов многочисленным является род *Penicillium* (20 видов), из них три вида являются наиболее массовыми (*P. oxalicum*, *P. restrictum*, *P. janthinellum*); по 7 видов включают роды *Aspergillus* и *Acremonium*, по 3 вида – *Chrysosporium* и *Beauveria*. Для исследуемого района оказалось характерным массовое развитие видов кератинофильных и энтомопатогенных видов грибов, таких как *Chrysosporium dermatitidis*, *Geomyces pannorus*, *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii*, причем *G. pannorus* был обнаружен в 6 образцах из 7, виды *Chrysosporium* и *Beauveria* – в 4 образцах. Содержание видов темноокрашенных грибов в исследованных образцах аквапочв составило 17%. Они представлены 12 видами из 9 родов. Одними из наиболее встречаемых видов оказались *Wardomyces inflatus* и *W. anomalus*. Следует отметить высокое содержание стерильного мицелия (преимущественно светлоокрашенного), имеющего наибольшие показатели массовости практически во всех изученных образцах аквапочв. В целом сходство грибных комплексов достигает уровня 42%. Однако большинство комплексов грибов сходны лишь на 10-16%.

Работа выполнена в рамках программы «Фундаментальные основы управления биоресурсами» РАН, поддержана грантами РФФИ № 05-04-48291, 06-04-96001-р_восток_a, грантом ДВО РАН «Грибы дальневосточных морей – потенциальные продуценты соединений новой структуры» № 06-III-B-05-133; государственными контрактами «Роснаука» «Научная школа» и «Коллекция морских микроорганизмов».

Особенности внутриклеточного распределения кадмия в клетках пищеварительной железы приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis*.

А. Ф. Слободенюк, В.П. Челомин, Н.Н. Бельчева, В.В. Кумейко*

Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева

** Институт биологии моря Дальневосточное отделение РАН*

Электронная почта: avianna@poi.dvo.ru

Биологические функции микроэлементов, в частности тяжелых металлов, и их перенос (поступление) в клетки и организм неизменно связан с существованием специфических металлсвязывающих макромолекул. Металлы в организме присутствуют как компоненты многочисленных ферментов, как компоненты неферментных металлобелков и других полимеров, связывающих металлы.

На примере приморского гребешка нами ранее было показано, что в природных условиях у моллюсков, взятых из чистых районов, в пищеварительной железе белок, который связывает кадмий, имеет молекулярный вес 68 кДа (по данным гель-хроматографии). Кроме кадмия этот белок связывает такие металлы, как Cu и Zn (соотношение Cd:Zn:Cu составляет 1:1:0,7), так же удалось установить, что в состав исследуемого белка входят углеводы.

Целью данной работы являлось:

1. Определение степени накопления Cd в пищеварительной железе приморского гребешка при аккумуляции кадмия в модельном эксперименте (100 мкг Cd/л в течение 3-х недель).
2. Исследовать распределение кадмия в цитозольной фракции пищеварительной железы *Mizuhopecten yessoensis*.

Результаты исследования показывают, что после пребывания экспериментальных моллюсков в среде, содержащей 100 мкг Cd/л, уровень Cd-связывающих белков у приморского гребешка в клетках пищеварительной железы увеличился более чем в 3 раза.

Методом гель-хроматографии на колонке Superosa 12 было показано, что после температурной обработки цитозоля (10 минут при 70° C) в термостабильной фракции максимальное содержание Cd обнаружено в области пика, соответствующему молекулярной массе белков около 70 кДа. Меньшая часть кадмия термостабильной фракции элюировалась в области, соответствующей молекулярной массе около 3 кДа.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что, используемая в нашем эксперименте концентрация кадмия в воде, превышала концентрацию этого же металла в чистых прибрежных водах зал Петра Великого в 1500-20000 раз (В. М. Шулькин. Металлы в экосистемах морских мелководий. Владивосток. Дальнаука. 2004. с. 102-103). Используемая в ходе опыта концентрация кадмия не вызвала у приморского гребешка индукцию синтеза Cd-связывающего белка, который соответствовал бы по своим характеристикам металлотионеинам или металлотионеин-подобным белкам, которые синтезируются в других двустворчатых моллюсках (Fowler, E. Gould. // Marine Biology. 1988. Vol. 97. pp. 207-216; Rossella Serra, et al. // Comp. Biochem. Physiol. 1999. Vol. 123C. Pp. 165-174).

Использование протеаз в технологии пищевых продуктов из мантий двустворчатых моллюсков *Spisula sachalinensis* и *Patinopecten yessoensis*

Е. С. Соболева, Н. Б. Стародубцева

Федеральное государственное унитарное предприятие «Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр»

Приведены данные по химическому составу мантий спизулы сахалинской и гребешка приморского. Показано, что мантии спизулы и гребешка отличаются высокой степенью обводнения белков. Содержание небелковых соединений в мантии спизулы в 4,5 раза превышает их содержания в мантии гребешка. Мантии двустворчатых моллюсков отличаются высоким содержанием соединительнотканых белков.

Изучена активность протеаз мантий двустворчатых моллюсков. Установлено, что протеазы проявляют активность в нейтральной, слабощелочной и слабокислой зонах pH. Изучен протеолиз белков мантий двустворчатых моллюсков под действием комплексного ферментного препарата «Крусэнзим». Установлено, что наиболее подвержены действию протеаз белки мантии гребешка. Необходимая степень протеолиза достигается после 1-3 суток посола.

Выяснено, что внесение гидроколлоидов (каррагинан и камедь) в фарш из мантии спизулы способствует образованию продукта с определенной структурой и консистенцией. Консистенция продукта зависит от вида и концентрации структурообразователя.

Анализ фитоценотивов аридных котловин Внутреннегорного Дагестана

А.И. Сунгурова

Республиканская государственная служба по охране окружающей среды и природных ресурсов
Республики Дагестан

Электронная почта: anyutik-78@mail.ru

Виды природной среды распределены неравномерно по всей территории изучаемого района. Они объединяются в группы со сходной экологией и ценоотическими взаимоотношениями. Фитоценоиты – это группы видов растений, различающиеся значимостью их в растительном сообществе. Растительное сообщество (фитоценоз) – совокупность видов растений на однородном участке, находящихся в сложных взаимоотношениях между собой и условиями окружающей среды. Фитоценоитические группы видов растений устанавливаются по их местообитаниям. Район исследования богат различными местообитаниями растений. Здесь имеются луга, степи, леса, каменистые склоны, солончаки, выходы известняков, глины, песка, скалы, склоны разной крутизны и экспозиции и т.д. Совокупность фитоэлементов в работе объединяются в фитоценоиты, которые наиболее полно отражают сформировавшиеся природные соотношения основных групп элементов флоры. В пределах аридных котловин Внутреннегорного Дагестана выделяются семь фитоценоитов: лесной, кустарниково-опушечный, скально-осыпной, луговой, степной, водно-болотный, сорный. Фитоценоитические спектры аридных котловин представлены в таблице 1.

Таблица 1. Соотношение фитоценоитов аридных котловин Внутреннегорного Дагестана (в абсолютных числах и % от общего количества видов)

№ п/п	Фитоценоит	Ботлихская аридная котловина		Гергебильская аридная котловина		Унцукульская аридная котловина	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
1.	Водно-болотный	7	4	4	5	4	4
2.	Лесной	2	1	4	5	2	2
3.	Луговой	35	23	20	27	31	32
4.	Кустарниково-опушечный	5	3	5	6	6	6
5.	Скально-осыпной	77	50	17	22	28	28
6.	Степной	22	14	19	25	21	21
7.	Сорный	8	5	8	10	7	7

Анализируя численный состав и пропорции фитоценоитов во флорах аридных котловин, следует подчеркнуть, что их ранги в спектрах отличаются. В Ботлихской аридной котловине лидирующее положение занимает скально-осыпной фитоценоит, в Гергебильской и в Унцукульской аридных котловинах – луговой фитоценоит. Второе место занимают в Ботлихской аридной котловине луговой фитоценоит, в Гергебильской аридной котловине степной фитоценоит, а в Унцукульской аридной котловине скально-осыпной.

Обобщая сведения из таблицы можно сказать, что флора аридных котловин Внутреннегорного Дагестана в своей естественной фитоценоитической основе является скально-осыпной и луговой со значительным участием степного.

**Морфофункциональная характеристика гемоцитов двустворчатого моллюска
*Anadara broughtonii***

Е.В. Табакова¹, В.В. Кумейко^{1,2}, Т.Ю. Магарламов², С.М. Рыбалкина¹

¹Дальневосточный государственный университет

²Институт биологии моря, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: odissi@inbox.ru

На сегодняшний день количество работ, где показано явное морфофункциональное различие среди гемоцитов моллюсков, ограничено. В настоящей работе исследована гемолимфа морского двустворчатого моллюска *Anadara broughtonii* на предмет выявления основных клеточных типов и определения их функционального статуса. *A. broughtonii* единственный представитель сем. Arcidae, обитающий в японском море, гемолимфа которого содержит, помимо основных клеточных типов моллюсков, гемоглобин-содержащие эритроциты.

Методом фракционирования гемоцитов в градиенте плотности Percoll получены четыре фракции различных клеточных типов. Самыми тяжелыми оказались эритроциты, заполнившие фракцию 40% Percoll, чуть выше располагались ювенильные эритроциты с некоторым количеством амебоцитов (фракция 35% Percoll), в следующей фракции (30% Percoll) отмечены зрелые амебоциты и в самой верхней фракции находились мелкие ювенильные амебоциты (20% Percoll). Исследование витальных препаратов каждой клеточной фракции с помощью фазово-контрастной световой микроскопии показало, что цитоплазма зрелых и ювенильных эритроцитов содержит гранулы. Моноспецифические поликлональные антитела против гемоглобина позволили выявить, что белок-глобин локализован не в гранулах, а диффузно внутри клеток. Также обнаружены две разные морфологические формы зрелых амебоцитов: ламеллоподиальная и ризоподиальная. Первая характеризуется высокими адгезионными свойствами, гетерогенностью ядра и прозрачной цитоплазмой. Для другой формы характерны тонкие длинные цитоплазматические отростки, способные к сократительной активности и везикулы вокруг ядра. Ювенильные клетки (амебоциты и эритроциты) отличаются от зрелых форм узким ободком цитоплазмы вокруг большого ядра, а их цитоплазма не образует отростков. С помощью электрофореза белков по Лэммли показано, что во фракции 40% Percoll содержится большая концентрация специфического белка – глобина, чья мономерная молекулярная масса соответствует 15-16кДа (Furuta et al., 1981). Во фракциях, содержащих амебоциты, выявлено наличие β-актина с молекулярной массой 43 кДа. Его присутствие объясняется способностью амебоцитов к активным движениям и сокращениям. Использование электронной микроскопии (ТЕМ) показало, что зрелые эритроциты – биосинтетически неактивные клетки с пикнотическим ядром и электронноплотными везикулами, возможно, это продукты разрушенных органоидов. Также были выделены два морфофункциональных типа зрелых амебоцитов: первый, содержащий гетерохроматическое ядро и крупные гетерогенные вакуоли, идентифицирован, как фагоцит; второй тип, имеющий эухроматическое ядро, большое количество цитоплазматических везикул с гранулярно-фибрилярным компонентом в центре, идентифицирован, как клетка, секретирующая гуморальные факторы. Ювенильные амебоциты на микрофотографиях содержат типично большое эухроматическое ядро и тонкий слой цитоплазмы.

Данные исследования показали высокий уровень клеточной специализации гемоцитов *A. broughtonii*.

Furuta H., Ohe M. and Kajita A. // Journal of Biochemistry. 1981. Vol. 82, Issue 6. P. 1723-1730.

Работа выполнена при поддержке Фонда US CRDF: RUXO-003-VL-06/BP1M03 и Министерства Образования и Науки РФ: RNP.2.1.1.2641

Выявление зоны гибридизации между видами мидии *Mytilus trossulus* и *M. galloprovincialis* в заливе Петра Великого Японского моря

А.В.Турленко

Институт Биологии Моря, Дальневосточное отделение РАН,
Дальневосточный Государственный Университет

Электронная почта: lenkatyr@mail.ru

Таксономические отношения видов семейства Mytilidae – предмет многих исследований, в том числе проводимых на основе методов популяционной и молекулярной генетики. Встречающиеся на Дальнем Востоке виды *M.trossulus* и *M.galloprovincialis* являются близкородственными и между ними возможна гибридизация.

Была изучена предполагаемая зона гибридизации между данными видами в заливе Петра Великого Японского моря. Материал был собран в южной части акватории Японского моря, а именно – в заливах Посъете и Уссурийском. Исследование проводилось методом полимеразной цепной реакции ДНК (ПЦР) с помощью пары праймеров Me15 и Me16 (видоспецифичный генетический маркер - участок неповторяющейся последовательностей гена белка биссуса).

Тотальную ДНК выделяли либо из жаберных пластинок, либо из ноги, либо из печени моллюсков, зафиксированных в 95% этиловом спирте. Мидии собирали из акватории Уссурийского залива (сентябрь 2004, 2005 года, три месяца после оседания), две выборки мидий из залива Посъета (май 2004 года, 1 год и 2 года после оседания, сентябрь 2005 года, 1 год после оседания). Фрагменты ДНК после ПЦР разделяли электрофорезом в агарозных гелях. На электрофореграммах самый короткий амплифицированный фрагмент свойственен для ДНК *M.galloprovincialis* и составляет 126 пн, у *M.trossulus* она имеет размер 168 пн. Соответственно, генотип гибрида содержит оба фрагмента.

Из проведенных исследований можно судить, что в 2004 и 2005 году в Уссурийском заливе не происходило оседания гибридных личинок. По результатам анализа выборок из залива Посъета, можно говорить о том, что в этом районе происходит оседание гибридных личинок, но через год или чуть более гибриды гибнут, не достигнув двухлетнего возраста и, по-видимому, не размножаются, поскольку не достигают возраста репродукции. Итак, в Уссурийском заливе не было зарегистрировано зоны гибридизации. В заливе Посъета процент гибридных особей в 2004 году составил 18,75%, а в 2005 соответственно 13,33%.

Возможно, что гибридизация происходит в районе Корейского полуострова. Затем гибридные личинки заносятся с Цусимским течением, но в отдельные годы гибридные личинки не заносятся южнее Посъета. Можно считать, что зона гибридизации не является постоянной, а вероятные широтные изменения связаны с межгодовыми изменениями течений. Кроме того, показано, что гибриды не встречаются в старших возрастных группах, что позволяет предположить гибель гибридных особей в условиях низких зимних температур. Поскольку в заливе Посъета процент гибридных особей достаточно высок, то вывод о гибели гибридных особей в зимнее время может быть важен с точки зрения эффективности марикультурных хозяйств Приморья.

Работа выполнена при поддержке фонда CRDF (грант VL-003-1X).

Влияние биогенных элементов (минеральных форм азота и фосфора) на рост фитопланктона в пруду Бугач в 2005 году.

А.А.Ултургашева¹, В.И.Колмаков¹, О.В.Онищенко²

¹Красноярский государственный университет

²Институт биофизики сибирское отделение РАН

Электронная почта: Annleon@mail.ru

Фитопланктон – основной производитель первичного органического вещества в водоеме, на базе которого создается все многообразие водной жизни.

В окрестностях города Красноярска для исследования был выбран пруд Бугач, подверженный ежегодному массовому развитию сине-зеленых водорослей.

Отбор проб на флуоресцентный и химический анализ производили еженедельно с 1 июля по 14 сентября.

В динамике NH_4 наблюдалось два максимума (вторая половина июля и последняя декада августа). Среднее содержание составило 0,123 мг/л.

Значения NO_2 и NO_3 в течении сезона находились в следовых количествах (средние значения составили 0,059 и 0,0013 мг/л соответственно).

Содержание $\text{R}_{\text{мин}}$ на протяжении вегетационного сезона было близко к аналитическому нулю. В сентябре концентрация повысилась до 0,13 мг/л. Соотношение $\text{N}_{\text{мин}}$ к $\text{R}_{\text{мин}}$ было 14:1. Данные показатели не являются лимитирующими для роста сине-зеленых водорослей.

Флуоресцентный анализ показал, что в водоеме доминировала группа диатомовых – динофитовых водорослей. Максимум развития приходился на начало июня (155 мкг/л) и начало сентября (259,47 мкг/л). Сине-зеленые водоросли получили наименьшее развитие среди всех отделов водорослей.

В исследуемый период дважды было зарегистрировано максимум количества осадков: 22 июня (24 мм) и 27 июля (36 мм). Максимальная сила ветра не превышала 15 м/с.

Полученные данные были подвергнуты корреляционному и регрессионному анализу.

Статистически значимая корреляционная связь между гидрофизическими и гидрохимическими факторами не обнаружена. Концентрация хлорофилла а диатомовых водорослей положительно коррелирует с силой ветра и осадками. Ветровое перемешивание помогает им поддерживать свою плавучесть возле поверхности.

Отрицательная связь ($r=-0,58$) между хлорофиллом а диатомовых и аммонийным азотом говорит о потреблении водорослями этой легкодоступной формы азота.

Прямая корреляция между хлорофиллом диатомовых, гидрофизическими параметрами и аммонийным азотом через 7 суток не сохраняется, что подтверждает кросскорреляционный анализ. Обнаружена положительная корреляция между хлорофиллом а зеленых водорослей и NH_4 , что говорит об инерционности физиологических процессов водорослей.

В период с 15 июля по 5 августа был проведен эксперимент, доказывающий лимитирование роста водорослей низким содержанием фосфора минерального. Использовали 8 колб: 2 варианта- контроль: фильтрат воды из пруда Бугач и инокулят водорослей из пятна цветения; опыт – фильтрат + инокулят и добавка фосфора (KH_2PO_4). В результате проведенного эксперимента было показано, что $\text{R}_{\text{мин}}$ является лимитирующим элементом (при концентрации 0,006 мг/л) для всех групп водорослей, т.к. после его добавки произошел их бурный рост.

Социальный статус и паттерн агрессивного поведения у лабораторных мышей в этологической модели “хозяин – чужак”

А.В. Федорова

Институт цитологии и генетики, Сибирское отделение РАН, Новосибирск, Россия
Электронная почта: afedorova@bionet.nsc.ru

Социальное доминирование – широко распространенная в популяциях животных структура поведенческих отношений, необходимая для успешного существования сообществ. Социальная иерархия формируется посредством агонистических взаимодействий между особями. В настоящее время изучение генетико-физиологических аспектов социального доминирования является актуальной проблемой генетики поведения. Социальное поведение животных относится к сложным количественным признакам, что предполагает использование относительно простой этологической модели с участием минимально возможного числа особей в группе. Для решения данной задачи в нашей лаборатории была разработана этологическая модель социального доминирования, состоящая из двух самцов мышей 3-х инбредных линий. В данной работе с использованием этой модели нами изучалась временная динамика агрессивного и защитного поведения, а также обонятельных контактов при ссаживании двух самцов мышей при начальном территориальном условии формирования иерархии, условно обозначаемом как “хозяин – чужак”. Для этого самец - “хозяин” помещался в индивидуальную клетку, где содержался в течение 4 дней. Затем в ту же экспериментальную клетку, но в отсек, отделенный от “хозяина” перегородкой, помещался самец - “чужак”. Этот день рассматривался как первый день наблюдения. Через 5 мин перегородка удалялась, и начиналось систематическое наблюдение за поведением партнеров. Его проводили 3 раза в день по 20 мин в течение 5 дней; социальный ранг самцов определяли по асимметрии в агрессивном поведении. Учитывали 10 элементов социального поведения: победы/поражения, прямые и ответные атаки, латентное время первой атаки, назо-назальные и назо-аногенитальные контакты, удары хвостом, агрессивный груминг, защитные вертикальные позы подчинения, “убегания”. В исследовании использовано 128 половозрелых самцов мышей 3-х инбредных линий РТ, СВА/Лас и BALB/cЛас. Статистическая обработка данных проводилась трехфакторным дисперсионным анализом с использованием пакета компьютерных программ STATISTICA 6.0.

Установлены достоверные различия между “хозяевами” и “чужаками” по количеству доминантных самцов, а именно “чужаки” достоверно чаще становились доминантами ($p < 0.001$). В первый день после образования группы большинство параметров агрессивного поведения у обоих партнеров имели максимальные значения по сравнению с последующими днями. Доминанты, независимо от принадлежности к “хозяину” или “чужаку”, достоверно чаще атаковали субординантов в первые 2 дня наблюдения ($p < 0.001$). Аналогичные данные были получены по числу побед. Установлено значимое снижение количества назо-назальных контактов со 2-го теста у всех групп животных ($p < 0.001$). Доминанты достоверно больше обнюхивали субординантов ($p < 0.001$). Территориальные условия не влияли на обонятельную активность. В то же время не наблюдалось значимых различий по этому показателю между “хозяевами” и “чужаками”. Анализ числа вертикальных защитных поз обнаружил значимое влияние социального ранга ($p < 0.001$), временной динамики ($p < 0.001$) и начальных условий образования иерархии ($p < 0.01$). В период формирования иерархии у “хозяев” - субординантов наблюдается достоверно больше вертикальных защитных поз по сравнению с “чужаками” - субординантами, в то время как у доминантов таких различий не наблюдалось.

Итак, в процессе установления и поддержания социальной иерархии паттерн агонистического и обонятельного поведения партнеров формируется в зависимости от начальных условий образования иерархии, причем “хозяева” отличаются от “чужаков” по большей выраженности защитного поведения и меньшей – агрессивного поведения. Кроме того, выраженность агрессивного поведения после установления иерархии у обоих партнеров снижалась, и происходила стабилизация социальных отношений.

Генетическая регуляция постнатального формирования тестикулярного стероидогенеза у самцов лабораторных мышей.

А. Е. Чередниченко

Институт Цитологии и Генетики Сибирского Отделения РАН, г. Новосибирск
Электронная почта: cherednichenko@bionet.nsc.ru

В предыдущих исследованиях нашей лаборатории (1, 2) на взрослых мышах шести инбредных линий была установлена генетическая изменчивость по гормональной активности семенников. Возникло предположение, что формирование наследственно обусловленного уровня тестикулярного стероидогенеза происходит в постнатальный период жизни при смене фетальной популяции клеток Лейдига на взрослую популяцию. Целью настоящей работы было выявить временной паттерн формирования тестостерон продуцирующей активности семенников и зависимых от тестостерона репродуктивных параметров в постнатальном онтогенезе у самцов лабораторных мышей. В работе исследовался уровень тестостерона в крови и его содержание в семенниках, количество сперматозоидов в эпидидимисах, вес репродуктивных органов с 1 по 90 день жизни у самцов мышей инбредных линий BALB/cLac, PT и CBA/Lac.

В эксперимент были взяты 1122 самцов в возрасте с 1 по 60 день постнатального развития. Животных содержали в стандартных условиях вивария. Самцов забивали декапитацией в утреннее время на 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 после рождения, количество животных в группе варьировало от 15 до 51. В качестве контроля использовали мышей этих же линий в возрасте 90. Измеряли массу семенников, семенных пузырьков, препуциальных желез, каудальной отделов эпидидимисов. Подсчет количества сперматозоидов в каудальных отделах эпидидимисов велся в камере Горяева с использованием светового микроскопа. Содержание тестостерона в сыворотке крови и гомогенатах семенников определялось иммуноферментным методом.

На 40 день жизни самцы линии CBA/Lac обладали самым высоким уровнем тестостерона в крови по сравнению с другими линиями, что указывает на более раннее половое созревание. Далее на 55 и 60 день самцы линии CBA/Lac и Balb/cLac имели уровень тестостерона в крови выше, чем самцы линии PT. Самцы линии CBA/Lac обладали самым высоким содержанием тестостерона в семенниках на 30, 35 и 40 дни по сравнению с другими линиями ($P < 0.05$). Напротив, у взрослых самцов самым высоким содержанием тестостерона в семенниках и крови характеризовалась линия PT ($P < 0.05$). Было показано, что, начиная с 35 дня, самой низкой массой тела обладали самцы линии PT, за исключением 50 дня, где линия CBA/Lac достоверно не отличалась от линии PT ($P < 0,05$). Начиная с 35 дня постнатального развития, самцы линии CBA/Lac характеризовались самой низкой массой семенников, но на 30, 40 и 45 дни линия PT обладала семенниками большей массы, чем линия BALB/cLac ($P < 0,05$). По весу эпидидимисов дефинитивные различия между линиями достигались на 50 и 55 день жизни, когда этот показатель был выше у самцов линии BALB/cLac. По массе семенных пузырьков линия BALB/cLac занимала лидирующее положение, начиная с 50 и далее ($P < 0,05$). По массе семенных пузырьков самцы линии PT и CBA/Lac достоверно отличались друг от друга только на 45 и 90 день. Самцы линии CBA/Lac характеризовались пониженным количеством сперматозоидов ($P < 0.05$) по сравнению с самцами других линий, начиная с 45 дня и до конца исследуемого периода, предполагая пониженный уровень фертильности.

Таким образом, было показано, что у самцов лабораторных мышей межлинейные различия по гормональным и некоторым другим репродуктивным показателям значительно модифицировались в ходе постнатального онтогенеза, указывая на зависимый от генотипа характер формирования половой системы.

[1]. Осадчук А.В., Свечников К.В. // Доклады Академии Наук, 1995, т. 343, № 2, с. 281-283.

[2]. Осадчук А. В., Свечников К. В. // Генетика. 1998. том 34, № 9, с. 1277-1285.

Перспектива использования лектинов для дифференциальной диагностики рака молочной железы

О.В. Черников¹, И.В. Чикаловец¹, Г.С. Гулян²

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии Дальневосточное отделение РАН

²Приморский краевой онкологический диспансер

Электронная почта: chernikol@yandex.ru

В настоящее время целый ряд гликопротеинов используется в качестве маркеров различных типов онкопатологий. Одними из них являются онкофетальные антигены (ОФА) – опухолеассоциированные антигены, продуцируемые опухолевыми клетками за счет реэкспрессии эмбриональных генов. Однако высокий уровень ОФА не всегда связан именно с процессом неопластической трансформации. Например раково-эмбриональный антиген (РЭА) появляется в крови при опухоли толстого кишечника, раке легких, молочной железы, головы и шеи, и так же присутствует у злостных курильщиков и больных циррозом печени. Известно, что при различных патологиях происходит нарушение синтеза углеводных цепей ОФА и РЭА в частности, поэтому лектины, благодаря своей способности связываться с моно- и олигосахаридами, могут быть использованы для выявления этих изменений.

В нашей лаборатории были выделены и охарактеризованы лектины CGL из мидии *Crenomytilus grayanus* и DTL-A из асцидии *Didemnum ternatanum*. Было показано, что эти лектины специфически взаимодействуют с углеводными структурами характерными для злокачественного роста. Кроме того, выявлено различие в связывании этих лектинов с гликоформами представителя ОФА трофобласт-специфического-бета-1 гликопротеина (ТБГ) при нормально протекающей беременности, угрозе невынашивания и злокачественном заболевании (пузырный занос). Это явилось предпосылкой для сравнительного анализа связывания лектинов с другим представителем этого класса маркеров – РЭА.

Для эксперимента были отобраны образцы сывороток: 8 - рак молочной железы и 10 – здоровые доноры. Полистирольный планшет с адсорбированными антителами к РЭА инкубировали со стандартным антигеном РЭА, используемым для построения калибровочной кривой, и образцами сывороток крови. Затем вносили конъюгаты лектинов, меченых пероксидазой. Ферментную активность определяли с помощью субстрата, регистрируя оптическую плотность на сканирующем спектрофотометре. Концентрацию РЭА в тестируемых образцах определяли по калибровочной кривой.

Результаты эксперимента показали существенную разницу в связывания CGL с РЭА из сывороток онкологических больных и здоровых доноров. Средний уровень РЭА, определенный по калибровочной кривой, в образцах с раком молочной железы был больше в 2 раза по сравнению с аналогичным для здоровых людей, причем минимальные значения для онкопатологии не перекрывалось с максимальным значением для нормы. Такое увеличение связывания вероятно обусловлено появлением при заболевании большого количества терминальных остатков галактозы или N-ацетилгалактозамина специфичных для CGL. Что же касается DTL-A, то связывание этого лектина было гораздо выше по сравнению с лектином из мидии. Из литературных данных известно, что основным углеводным компонентом РЭА является специфичный для DTL-A N-ацетилглюкозамин (около 40%). Однако для лектина из асцидии отсутствовала разница во взаимодействии с РЭА при злокачественном заболевании и норме. Единственное этому объяснение – в избытке представленный N-ацетилглюкозамин не подвергается замене во время патологического процесса и таким образом не происходит изменения в связывании.

Таким образом, выявлено очевидное различие строения углеводных цепей РЭА в случае рака молочной железы и здорового организма. Показано наличие значительной разницы в связывании CGL с РЭА при разных физиологических процессах, что делает этот лектин перспективным для дальнейшего исследования и накопления статистических данных. Данный метод в дальнейшем, возможно, будет использован для проверки диагноза и прогнозирования течения заболевания.

Генетическая дифференциация популяций мальмы *Salvelinus malma* по данным RFLP-PCR анализа митохондриальной ДНК

Е. И. Чукова

Институт биологии моря, Дальневосточное отделение РАН

Дальневосточный государственный университет

Электронная почта: *jaja@list.ru*

Гольцы рода *Salvelinus* – относительно молодая группа лососевых рыб, отличающаяся значительным широтным распространением и фенотипическим разнообразием, обилием видов и внутривидовых форм. Все это выдвигает их на одно из первых мест среди модельных объектов для исследования закономерностей возникновения и эволюции арктической фауны, факторов и механизмов формо- и видообразования, критериев вида, а также для апробации различных методов филогенетики и систематики.

Цель данной работы состояла в изучении влияния изоляции на генетические характеристики в популяциях мальмы *Salvelinus malma krascheninnikovi* и *Salvelinus malma malma*, с использованием метода рестриктазного анализа фрагментов митохондриальной ДНК (RFLP), амплифицированных в полимеразной цепной реакции (PCR).

Был проанализирован рестрикционный полиморфизм трех участков мтДНК, амплифицированных в полимеразной цепной реакции, с общей длиной 7672 пары нуклеотидов, кодирующих четыре субъединицы надоксиддегидрогеназы (ND1, ND2, ND5, ND6), ген цитохрома *b*, участок D-петли и тринадцать генов тРНК, которые в сумме составляют около 47% от митохондриального генома лососей.

По результатам PCR-RFLP анализа мтДНК было обнаружено 7 гаплотипов мтДНК, представляющие две филогенетические группы мальмы *S. m. malma* и *S. m. krascheninnikovi*. Уровень дивергенции нуклеотидных последовательностей между гаплотипами *S. m. malma* и *S. m. krascheninnikovi* равен 4% и совпадает с опубликованными данными.

Популяция *S. m. malma* является карликовой ручьевогой формой репродуктивно изолированной от проходной мальмы. Распределение частот гаплотипов мтДНК свидетельствует, что данная популяция находится в стабильном состоянии и не подвергалась уменьшению численности в прошлом. Появление и сохранение редких гаплотипов мтДНК, вероятно, обусловлено изоляцией популяции ключа Холодного, а поддержание высоких частот нескольких доминирующих гаплотипов мтДНК может быть связано с длительным и стабильным существованием популяции при постоянной численности.

Показано, что уровень гаплотипического и нуклеотидного разнообразия мтДНК *S. m. krascheninnikovi* в популяции ручья Безымянный (о. Сахалин) равен 0, что связано с изоляцией популяции водопадом. Вследствие вулканических и тектонических процессов, происходивших в Сахалино-Курильском регионе в плейстоцене, популяция мальмы *S. m. krascheninnikovi*, очевидно, подвергалась сокращению численности. Учитывая, что современная генетическая структура популяции представлена одним гаплотипом мтДНК, мы наблюдаем в данном случае эффект основателя, как проявление дрейфа генов в полностью изолированной популяции.

Работа выполнена при поддержке фонда CRDF (грант VL-003-1X).

Новый эволюционно-консервативный фактор транскрипции SAYP высших эукариот.

Ю.В. Шидловский, Н.Е. Воробьева, Ю.В. Николенко, Л.А. Лебедева,
А.Н. Краснов, Ю.В. Ильин, Е.Н. Набирочкина, С.Г. Георгиева
Институт биологии гена РАН
Электронная почта: yul@genebiology.ru

Enhancers of yellow [*e(y)*] – группа функционально связанных генов дрозофилы, продукты которых участвуют во взаимодействии энхансера и промотора гена *yellow* и активации транскрипции. Ген *e(y)3*, рассматриваемый в данной работе, кодирует ядерный белок SAYP (Supporter of Activation of Yellow Protein), имеющий гомологов у различных видов многоклеточных, в том числе у человека. Ген *e(y)3* экспрессируется на всех стадиях развития, во многих тканях. Слабая мутация *e(y)^{ul}* вызывает многочисленные нарушения в развитии дрозофилы. Сильная мутация *e(y)^{EMSI}* приводит к гибели на эмбриональной стадии, что указывает на незаменимость SAYP в онтогенезе.

На хромосомах SAYP локализуется совместно с РНК-полимеразой II во многих локусах транскрипционно-активного эухроматина. В то же время SAYP присутствует в районах перичентрического гетерохроматина и гетерохроматина IV хромосомы, где подавляет экспрессию локализованных там трансгенов. Таким образом, SAYP играет двойную роль в регуляции экспрессии генов.

Белок SAYP состоит из 2008 аминокислотных остатков, содержит мотив AT-hook, два цинковых пальца типа PHD и новый эволюционно-консервативный домен SAY. Домен SAY участвует в активации транскрипции, а домены PHD важны как для активаторной, так и для репрессорной функции SAYP.

Показано, что SAYP является компонентом ДНК-связывающего комплекса массой около 2 МДа и взаимодействует с рядом факторов транскрипции, таких как TFIID, Brahma, SAGA, вовлекая которые, SAYP, по-видимому, осуществляется свои функции в ядре.

Таким образом, в данной работе приводится описание и предлагается модель функционирования нового общего фактора транскрипции высших эукариот, участвующего в экспрессии многих генов.

Использование агарозной пластины для определения активности амилазы слюны

И.А. Шпирная, Р.И. Ибрагимов

Башкирский государственный университет, г. Уфа (Россия); E-mail: i-shia@yandex.ru

Амилолитические ферменты широко представлены в тканях растений, животных и микроорганизмов.

Существующие методы определения активности амилаз [1,2] сложны и трудоемки, требуют большого количества биологического материала. В связи с этим, разработка новых методов определения амилолитической активности является актуальной задачей. Нами предложен метод определения активности амилазы слюны на пластинах с агарозным гелем.

Приготовление геля.

В 100 мл 2% раствора крахмала, при нагревании растворяли 1,5 г агарозы. Гель разливали на пластиковые пластины 12,5*8,5 см с бортиками 0,5см (использовали крышки от иммунологических планшетов), на ровной поверхности по 20 мл на пластину. В застывшем геле вырезали лунки, диаметром 4 мм. Для предотвращения испарения из лунок, пластину с гелем накрывали крышкой планшета. Инкубацию проводили в течение 14 часов, при температуре 37 °С

После окончания времени инкубации пластины окрашивали раствором Люголя. Участки геля вокруг лунок осветлялись за счет гидролиза субстрата. Размер зон просветления зависит от активности (концентрации) фермента.

Активность фермента определяли путем измерения площади гидролизованного участка вокруг лунки, за единицу активности (ПЕ) принимали такое количество фермента, которое гидролизовало 1 мм² субстрата.

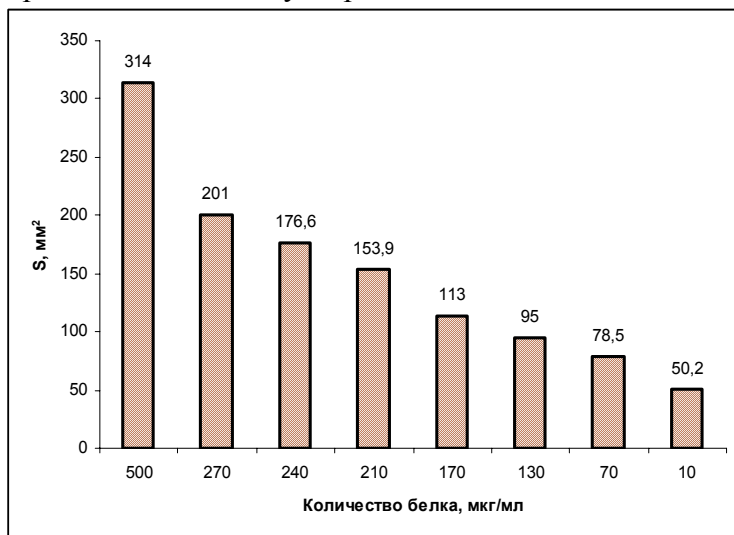


Рис. 1. Зависимость активности амилазы от концентрации слюны

На рис.1. приведены данные об активности амилазы слюны, в зависимости разбавления (содержания белка).

Таким образом, предложенный нами метод определения амилазы слюны характеризуется невысокой трудоемкостью, компактностью и дешевизной оборудования и материалов. Этот метод может быть использован и для определения активности амилаз из других источников. Достоинством метода также является возможность использования микрообъемов неочищенных ферментных растворов, что важно при проведении большого количества анализов.

Литература:

1. Практикум по общей биохимии. Филипович Ю.Б. М.: Просвещение, 1975.- 318с.
2. Практикум по физиологии растений. Третьяков Н.Н., Карнаухов Т.В.–М.: Агропромиздат, 1990.- 271с.

Визуализация динамики мембран ЭПР в спермио- и сперматогенезе с использованием GFP-маркеров на модели *Drosophila melanogaster*

О.С. Юдина, О.О. Нерушева, Н.В. Дорогова, Л.В. Омелянчук
Институт Цитологии и Генетики, Советское Отделение РАН
Электронная почта: olya_y@ngs.ru

Впервые была показана динамика и организация эндоплазматического ретикулума в процессах спермио- и сперматогенеза на модели *Drosophila melanogaster* при помощи химерного белка- дисульфид изомеразы, используя GFP- маркер. Ранее была получена конструкция, полученная путем встройки последовательности GFP в геномный локус гена, кодирующего белок дисульфид изомеразу [1]. В результате чего, репортерный ген находился под контролем естественного промотера гена, кодирующего белок дисульфид изомеразу, таким образом, позволяя проследить временную экспрессию и пространственную локализацию целевого белка. Дисульфид изомеразы- это основной белковый компонент эндоплазматического ретикулума [2].

В сперматоцитах первого порядка, на стадии предшествующей мейозу, эндоплазматический ретикулум локализуется вокруг ядра и имеет ретикулярную форму. В профазе ЭПР значительно перераспределяется: делится на две части, располагается в районе центриолей и приобретает фибриллярную форму, для стадии метафазы характерно образование четких тяжей ЭПР, соответствующих по положению нитям веретена деления. В анафазе и на ранних стадиях телофазы, вплоть до стадии цитокинеза сохраняется такая же конфигурация ЭПР. После распада веретена деления и образования перетяжки, ЭПР снова восстанавливает ретикулярную форму, характерную для интерфазы.

На более поздних стадиях «луковицы» и «кометы», когда формируется небенкерн, ЭПР сохраняет ретикулярную форму, четко ограничивая два компартмента, в которых располагаются ядро и небенкерн.

Интересные результаты получены на стадии предшествующей индивидуализации, исчезает ретикулярная структура ЭПР, вместо которой образуется большое количество везикул, заполняющих всю цисту. В процессе формирования отдельных спермиев весь везикулярный материал собирается в области индивидуализационного комплекса, который при перемещении от базального к апикальному концу спермиев увеличивается в размерах. Так же видно, что между индивидуализационным комплексом и ядром, не остается цитоплазматического материала. К концу спермиогенеза, весь избыточный цитоплазматический материал в виде отдельной структуры отщепляется от цисты. Для сравнения была исследована другая линия мух, содержащая так же химерный белок- казеин киназу, сцепленный с GFP- маркером, этот белок содержится в норме во всех типах мембран. Было показано иное распределение мембран в спермио- и сперматогенезе, на всех стадиях наблюдалось равномерное окрашивание всей цитоплазмы.

1. Bobinac Y., Marcaillou C., Morin X., Debec A.. Dynamics of the endoplasmic reticulum during early development of *Drosophila melanogaster* //Cell Motility Cytoskel. Res. 2003. V. 54(3). P. 217-225.

2. Suzuki T., Terasaki M., Takemoto-Hori C., Hanada T. Structural compensation for the deficit of rRNA with proteins in the mammalian mitochondrial ribosome. Systematic analysis of protein components of the large ribosomal subunit from mammalian mitochondria // J. Biol. Chem. Res. 2001. V. 276(24). P. 21724-21736.

Трансформации эмбрионов морских ежей агробактериями

К.В. Яковлев¹, К.В. Киселев², В.П. Булгаков², Н.А. Одинцова¹

¹Институт биологии моря, Дальневосточное отделение РАН

²Биолого-почвенный институт, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: zimbabwe@mail.ru

В мировой научной практике агробактерии широко используются для генетической трансформации растений. Кроме того, на сегодняшний день показана возможность переноса части ДНК агробактерий в клетки грибов и животных, включая человека. Это говорит о способности агробактерий к переносу ДНК между царствами за счет существования достаточно универсальных и консервативных механизмов переноса ДНК.

При взаимодействии агробактерии с растительной клеткой часть плазмидной ДНК (Т-ДНК), в состав которой входят агробактериальные онкогены *rol* и вирулентные гены *vir*, интегрируется в хромосомы клетки-хозяина. Т-ДНК переносится за счет пили-опосредованного механизма. Компоненты пили-комплекса кодируются локусом *vir*, обеспечивающим контакты с растительной клеткой и транспорт ДНК. В результате переноса и встройки агробактериальной ДНК, растительная клетка претерпевает злокачественную трансформацию и начинает синтезировать необходимые для жизнедеятельности вещества – опиины. Трансформация генами семейства *rol* приводит к неорганизованному росту клеток с изменением программы развития, при этом сохраняется способность клеток к дифференцировке.

Нами впервые показано, что бактериальные онкогены, трансформирующие высшие растения, могут инициировать процесс трансформации эмбрионов морских ежей. Трансформация происходит при совместном культивировании агробактерий и эмбрионов. Доказана встройка чужеродных генов в геном морских ежей методом ТАИЛ ПЦР, а их экспрессия в клетках трансгенных морских ежей показана методом ОТ ПЦР. При совместном культивировании с агробактериями отмечено появление большого числа эмбрионов с опухолеподобными структурами (ОПС). Окончательно природа ОПС не изучена, но на данный момент определено, что такие структуры появляются вследствие аномального и чрезмерного развития мезенхимного паттерна эмбриона. Установлены различия между ОПС и экзогастрულიей, которая является наиболее распространенным типом аномального развития эмбрионов морского ежа.

При совместном культивировании эмбрионов морских ежей со штаммами агробактерий, мутантных по одному из генов локуса *vir*, количество ОПС уменьшается и соотносимо с количеством ОПС при трансформации контрольными штаммами, не несущими гены *rol*. Этот факт является дополнительным доказательством участия генов *vir* в переносе Т-ДНК агробактерий в геном морских ежей, а также свидетельствует о участии генов *rol* в образовании опухолеподобных структур.

На электронно-микроскопическом уровне обнаружены контакты между агробактериями и эмбриональными клетками морских ежей. Контакты представлены нитевидными образованиями с диаметром 10 нм. Это является непосредственным подтверждением предполагаемого Т-пили опосредованного механизма переноса Т-ДНК от агробактерий в клетки эукариот.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Аверьянова Е.В.	35	Киселева Е.В.	12
Авилов С.А.	33	Кича А.А.	28
Авраменко Е.В.	3	Колесникова С.А.	24
Агафонова И.Г.	33	Колмаков В.И.	46
Аминин Д.Л.	3, 33	Корнейчук Н.Г.	25
Анастюк С.Д.	38	Костецкий Э.Я.	26
Аникин С.В.	7	Краснов А.Н.	51
Башарина Т.Н.	4	Кратасюк В.А.	5
Белосоков Н.Н.	5	Куимова Н.Г.	6
Бельчева Н.Н.	41	Кумейко В.В.	41, 44
Березина О.В.	6	Лебедева Л.А.	51
Блоцкий Р.А.	34	Ли И.А.	26
Борзенко Е.С.	7	Лисицкая К.В.	27
Бредюк О.А.	8	Луценко И.А.	18
Брижатая А.А.	9	Магарламов Т.Ю.	44
Булгаков В.П.	54	Мазейка А.Н.	26
Бурцева Ю.В.	10	Макаров А.А.	27
Ветрова Е.В.	5	Макарьева Т.Н.	20
Воробьева Н.Е.	51	Маляренко Т.В.	28
Георгиева С.Г.	51	Маркина Ж.В.	29
Глызина О.Ю.	4	Мартыяс Е.А.	30, 37
Гордина О.А.	10	Маслобоева Н.Ю.	31
Горин А.А.	7	Матвеева Н.М.	32
Григал П.П.	11	Мензоров А.Г.	32
Губанова Н.В.	12	Миронова А.О.	33
Гузев К.В.	39	Молло Э.	28
Гузий А.Г.	20	Молчанова В.И.	25
Гулян Г.С.	49	Набережных Г.А.	38
Демидкова Д.А.	13	Набирочкина Е.Н.	51
Демина Е.А.	14	Нерушева О.О.	53
Дмитренко П.С.	28	Николенко Ю.В.	51
Дорогова Н.В.	53	Новикова О.Д.	39
Дорошенко А.М.	15	Одинцова Н.А.	54
Дышловой С.А.	16	Омельянчук Л.В.	53
Еремина Л.С.	27	Онищенко Е.А.	12
Ершов К.И.	17	Онищенко О.В.	46
Заева А.С.	18	Памирский И.Э.	34
Заремба М.А.	19	Писаренко О.О.	35
Захаренко А.М.	20	Попов А.М.	26
Ибрагимов Р.И.	52	Портнягина О.Ю.	26, 39
Иванчина Н.В.	28	Похило Н.Д.	3
Ивчук О.И.	16, 37	Рыбалкина С.М.	44
Ильин Ю.В.	51	Санина Н.М.	26
Исаева М.П.	39	Сарин С.А.	36
Калиновский А.И.	24, 28	Сафонова Т.А.	4
Калманова В.Б.	21	Серов О.Л.	32
Караман Ю.К.	22	Сигида Е.Н.	37
Карпухина Е.В.	23	Сидорин Е.В.	38
Ким Н.Ю.	38	Сидорова О.В.	39
Киселев К.В.	54	Сильченко А.С.	33

Слинкина Н.Н.	40
Слободенюк А.Ф.	41
Соболева Е.С.	42
Соловьева Т.Ф.	38
Стародубцева Н.Б.	42
Стоник В.А.	24
Сунгурова А.И.	43
Табаква Е.В.	44
Турленко А.В.	45
Ултургашева А.А.	46
Федоров С.Н.	24
Федорова А.В.	47
Хорсева Н.И.	11
Челомин В.П.	41
Чердниченко А.Е.	48
Черников О.В.	49
Чикаловец И.В.	16, 25, 37, 49
Чукова Е.И.	50
Шидловский Ю.В.	51
Шпирная И.А.	52
Штарберг М.А.	34
Шубина Л.К.	24
Юдина О.С.	53
Яковлев К.В.	54
Якубовская А.Я.	3

СОДЕРЖАНИЕ

Авраменко Е.В., Якубовская А.Я., Похило Н.Д., Аминин Д.Л. Биологическая активность производных нафтохинона.	3
Башарина Т.Н., Сафонова Т.А., Глызина О.Ю. Культивирование пресноводной водоросли <i>Synedra acus</i> в 100-литровом фотобиореакторе.	4
Белосков Н. Н., Кратасюк В.А., Ветрова Е.В. Исследование влияния пестицидов на бактериальную биолюминесцентную биферментную систему.	5
Березина О.В., Куимова Н.Г. Микологическая индикация аэротехногенного загрязнения городской среды.	6
Борзенко Е.С., Горин А.А., Аникин С.В. Разработка лекарственного препарата ингибитора протеаз с использованием методов протеомики и биоинформатики.	7
Бредюк О.А. Строение полиядерных комплексов таллия(I) с циклическими диалкилдитиокарбаматными лигандами.	8
Брижатая А.А. Анализ условий произрастания древостоя в районе бассейна р. Комаровка.	9
Гордина О.А., Бурцева Ю.В. Морские грибы как продуценты ферментов, расщепляющих углеводсодержащие соединения.	10
Григал П.П., Хорсева Н.И. Индивидуально-типологические особенности мелкой моторики руки.	11
Губанова Н.В., Онищенко Е.А., Киселева Е.В. Малая ГТФ-азы Ran влияет на сборку ядерных пор, но не участвует в сборке цитоплазматических поровых комплексов.	12
Демидкова Д.А. Исследование состава жирных кислот некоторых массовых видов кораллов тропических вод Вьетнама.	13
Демина Е.А. Особенности аминокислотного обмена у проростков <i>Fagopyrum esculentum</i> под действием трициклического циклопентанового β, β' -трикетона.	14
Дорошенко А.М. Исследование загрязнения атмосферы в результате лесных пожаров, на территории ЕАО.	15
Дышловой С.А., Ивчук О.И., Чикаловец И.В. Исследование уровня эстеразной активности экстрактов водоросли <i>Ulva fenestrata</i> как показателя качества морской воды.	16
Ершов К.И. Роль костного матрикса в нарушении минерализации костной ткани при сенильном остеопорозе у крыс.	17
Заева А.С., Луценко И.А. Образование супрамолекулярных комплексов в реакциях аддуктообразования диэтилдитиокарбаматов цинка и меди(II) с морфолином по данным ЭПР и РСА.	18
Заремба М.А. Структурные особенности и ЯМР ^{195}Pt спектроскопия монокристаллического куперита (природный PtS).	19
Захаренко А.М., Макарьева Т.Н., Гузий А.Г. Ризохалин В – новый двухголовый сфинголипид из губки <i>Rhizochalina incrustata</i> .	20
Калманова В.Б. Оценка аккумулятивной способности дендрофлоры на территории г. Биробиджан.	21
Караман Ю.К. Экспериментальное изучение характера биологического действия препарата на основе липидов гепатопанкреаса камчатского краба, содержащего 1-О-алкил-диацилглицериды и $\omega 3$ полиненасыщенные жирные кислоты при заболеваниях алиментарной этиологии.	22

Карпухина Е.В. Культура тканей и суспензии клеток <i>Brassica napus</i> в условиях <i>in vitro</i> как основа получения трансгенных растений – продуцентов биополимеров.	23
Колесникова С.А., Калиновский А.И., Фёдоров С.Н., Шубина Л.К., Стоник В.А. Новые дитерпеноиды из дальневосточной бурой водоросли <i>Dictyota dichotoma</i> .	24
Корнейчук Н.Г., Молчанова В.И., Чикаловец И.В. Сравнительная характеристика лектинов, выделенных из морского червя <i>Serpula vermicularis</i> .	25
Мазейка А.Н., Ли И.А., Попов А.М., Санина Н.М., Костецкий Э.Я., Портнягина О.Ю. Липид-сапониновые комплексы на основе тритерпеновых гликозидов голотурий и гликоглицеролипидов морских макрофитов – новый тип носителей антигенов для разработки субъединичных вакцин.	26
Макаров А.А., Лисицкая К.В., Еремина Л.С. Выявление и идентификация белков, вовлеченных в процесс миогенной дифференцировки скелетномышечных миобластов человека.	27
Маляренко Т.В., Иванчина Н.В., Кича А.А., Калиновский А.И., Дмитренко П.С., Молло Э. Полярные стероидные соединения из антарктической морской звезды <i>Diplasterias brucei</i> .	28
Маркина Ж.В. Воздействие детергента “Ariel” на бентосную морскую микроводоросль <i>Attheya ussurensis</i> (Bacillariophyta).	29
Мартыяс Е.А. Фунгицидная активность структурных аналогов природных циклопентеновых β, β' -трикетонов.	30
Маслобоева Н.Ю. Генетический анализ популяций Сибирского белого журавля (<i>Grus leucogeranus</i> Pall.).	31
Мензоров А.Г., Матвеева Н.М., Серов О.Л. Использование единичных клеток для изучения судьбы родительских митохондрий в эмбриональных гибридных клетках мыши.	32
Миронова А.О., Сильченко А.С., Авилов С.А., Агафонова И.Г., Аминин Д.Л. Изучение биологической активности тритерпеновых гликозидов голотурий.	33
Памирский И.Э., Блоцкий Р.А., Штарберг М.А. Отечественные и зарубежные компьютерные программы в создании новых лекарственных средств и прогнозировании их свойств.	34
Писаренко О.О., Аверьянова Е.В. Синтез 7-хлор-5-фенил-3-метил-1,2-дигидро-2Н-1,4-бенздиазепин-2-она.	35
Сарин С.А. Инструментальный нейтронно-активационный анализ благородных металлов.	36
Сигида Е.Н., Мартыяс Е.А., Ивчук О.И., Чикаловец И.В. Изучение связывания лектина CGL, выделенного из мидии <i>Crenomitilus grayanus</i> со штаммами грибов, высеянных из этой же мидии.	37
Сидорова О.В., Портнягина О.Ю., Исаева М.П., Гузев К.В., Новикова О.Д. Использование компьютерных программ для расчетов антигенных детерминант порообразующих белков наружной мембраны патогенных иерсиний.	38
Сидорин Е.В., Ким Н.Ю., Анастюк С.Д., Набережных Г.А., Соловьева Т.Ф. Низкомолекулярный иммуноглобулинсвязывающий белок из <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> .	39
Слинкина Н.Н. Микобиота аквапочв стоковой линзы р. Амур (Сахалинский залив, о. Сахалин).	40
Слободенюк А.Ф., Челомин В.П., Бельчева Н.Н., Кумейко В.В.	41

Особенности внутриклеточного распределения кадмия в клетках пищеварительной железы приморского гребешка <i>Mizuhopecten yessoensis</i> .	
Соболева Е. С., Стародубцева Н. Б. Использование протеаз в технологии пищевых продуктов из мантий двустворчатых моллюсков <i>Spisula sachalinensis</i> и <i>Patinopecten yessoensis</i> .	42
Сунгурова А.И. Анализ фитоценотивов аридных котловин Внутреннегорного Дагестана.	43
Табаква Е.В., Кумейко В.В., Магарламов Т.Ю., Рыбалкина С.М. Морфофункциональная характеристика гемоцитов двустворчатого моллюска <i>Anadara broughtonii</i> .	44
Турленко А.В. Выявление зоны гибридизации между видами мидии <i>Mytilus trossulus</i> и <i>M. galloprovincialis</i> в заливе Петра Великого Японского моря.	45
Ултургашева А.А., Колмаков В.И., Онищенко О.В. Влияние биогенных элементов (минеральных форм азота и фосфора) на рост фитопланктона в пруду Бугач в 2005 году.	46
Федорова А.В. Социальный статус и паттерн агрессивного поведения у лабораторных мышей в этологической модели “хозяин – чужак”.	47
Чередниченко А.Е. Генетическая регуляция постнатального формирования тестикулярного стероидогенеза у самцов лабораторных мышей.	48
Черников О.В., Чикаловец И.В., Гулян Г.С. Перспектива использования лектинов для дифференциальной диагностики рака молочной железы.	49
Чукова Е. И. Генетическая дифференциация популяций мальмы <i>Salvelinus malma</i> по данным RFLP-PCR анализа митохондриальной ДНК	50
Шидловский Ю.В., Воробьева Н.Е., Николенко Ю.В., Лебедева Л.А., Краснов А.Н., Ильин Ю.В., Набирочкина Е.Н., Георгиева С.Г. Новый эволюционно-консервативный фактор транскрипции SAYP высших эукариот.	51
Шпирная И.А., Ибрагимов Р.И. Использование агарозной пластины для определения активности амилазы слюны.	52
Юдина О.С., Нерушева О.О., Дорогова Н.В., Омельянчук Л.В. Визуализация динамики мембран ЭПР в спермио- и сперматогенезе с использованием GFP-маркеров на модели <i>Drosophila melanogaster</i> .	53
Яковлев К.В., Киселев К.В., Булгаков В.П., Одинцова Н.А. Трансформации эмбрионов морских ежей агробактериями.	54

