

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ДАЛЬНЕВОСТОЧНОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

ТИХООКЕАНСКИЙ ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
НОЦ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ МОРСКОЙ БИОТЫ ДВГУ

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

**МЭС ТИБОХ
ВЛАДИВОСТОК**

11-18 сентября

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

**Владивосток
ДВО РАН
2007**

XI Международная молодежная Школа-конференция по актуальным проблемам химии и биологии, МЭС ТИБОХ, Владивосток 11-18 сентября 2007 г.: Тезисы докладов.
– Владивосток: ДВО РАН, 2007. с.

В сборнике представлены тезисы устных и стендовых докладов студентов, аспирантов и молодых ученых, участников XI 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, О.И. Ивчук

Редакционная коллегия: В.Е. Васьковский, М.И. Кусайкин, О.И. Ивчук

Фауна пелагических остракод подкласса *Myodocora* Северного Ледовитого океана.

А. Г. Башманов

Институт биологии моря, Дальневосточное отделение РАН.

Электронная почта: b0000@list.ru

История изучения пелагических остракод в водах Северного Ледовитого океана насчитывает уже около полутора столетий, начиная свой отсчёт с появления первой публикации о них ещё в 60-е годы XIX века (Sars, 1865). За этот период остракоды были исследованы почти на всей его акватории. Однако степень их изученности весьма неоднородна в различных районах этого бассейна. Наиболее исследованными в этом отношении является Норвежское, Гренландское моря и Центральная Арктика.

Результаты анализа литературных и собственных данных дают возможность характеризовать фауну этих организмов в водах Северного Ледовитого океана, как чрезвычайно обеднённую, имеющую преимущественно северо-атлантический генезис. Она насчитывает всего 13 видов, десять из которых принадлежат к группе голопланктона а три других - к меропланктону. Последние в пелагиали редки, поэтому ниже речь пойдёт о голопланктонных видах.

В центральной Арктике наибольшее разнообразие видов отмечено для тёплого атлантического слоя, залегающего на глубинах от 200(250) до 750(900) м в пределах всей его акватории. Основой его населения является комплекс бореальных видов. Выше и ниже его обитают лишь виды, адаптированные к условиям холодных арктических вод. Аналогичная приуроченность вертикального распределения остракод к тёплым и холодным водным массам наблюдается также в Норвежском и Гренландском морях. Наиболее массовым среди остракод в Северном Ледовитом океане является арктический вид *Boroecia maxima*. Его относительное содержание нередко составляет 70-90% от всех видов этой группы. Севернее 84-85° с.ш. среди планктонных остракод он единственный обитатель пелагиали от поверхности до глубин 750-900(1000) м. Ниже этой границы наряду с ним встречается лишь широко распространённый в Мировом океане глубоководный вид *Proceroecia vitjazi*. Максимальные скопления *B. maxima* в высоких широтах образует в основном на глубинах 25-50 и 50-100 м, т.е. в холодных поверхностном и промежуточном слоях. В условиях полярного дня этот вид не совершает, или почти не совершает вертикальных миграций. Наличие в планктоне в разные биологические сезоны самок с яйцами в выводковых сумках и личинок разных стадий развития позволяет говорить о круглогодичном размножении этой остракоды. Ареал *B. maxima* ограничен распространением арктических вод (исключая мелководные, шельфовые районы, т.к. вид относится к группе океанического планктона) и является их биологическим маркером. В северной Атлантике он максимально на глубинах проникает к югу до 43° с.ш. в приамериканских и до 52° с.ш. в приевропейских водах.

Если *B. maxima* - хороший маркер адвекции арктических вод в пределы Северной Атлантики, то другой вид из этого рода *B. borealis* - биоиндикатор субарктических водных масс, проникающих в районы Полярного бассейна.

Obtusoecia obtusata населяет воды Норвежского и Гренландского морей, Северной Атлантики и с Нордкапским течением заходит в Арктику, встречаясь к северу от Земли Франца Иосифа и Шпицбергена. В последних районах он найден только в тёплом атлантическом слое, а потому также как и *B. borealis* является хорошим показателем проникновения бореальных вод в Арктику.

В настоящей работе проанализированы материалы собранные в основном в годы, предшествующие выраженному потеплению климата, поэтому полученные результаты отражают гидрологическую ситуацию «холодного» периода и могут представлять интерес для гидробиологического мониторинга.

Трофология *Aulactinia stella* (Anthozoa: Actiniaria) в Белом море.

Е.С. Бочарова

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии
Электронная почта: bocharova_e_s@inbox.ru

Aulactinia stella (Verrill, 1864) – бореально-арктический вид, широко распространенный на литорали Белого и Баренцева морей. Эту актинию ранее относили к роду *Bunodactis* и даже ошибочно определяли как *Actinia equina*. В Белом море место обитания *A. stella* ограничено зоной нижней и средней литорали. Материалом для работы послужили сборы актиний *A. stella* в окрестностях Беломорской Биологической Станции Московского Государственного Университета в 2004 и 2006 гг.

Результаты вскрытия животных показали, что только 27,5 % актиний содержали в гастральной полости пищу. Один пищевой комок состоял из 1-4 компонентов. Пищевой спектр актиний включал 5 видов моллюсков, хитин ракообразных, водоросли, минеральные частицы и мягкие ткани животных, которые представляли собой полупереваренную массу. Не встречено ни одной особи, у которой пищевой комок состоял бы только из минеральных частиц и водорослей. Индекс наполнения гастральной полости колебался в широких пределах: от 20 до 17480 ‰, а в среднем был около 1120 ‰.

Наибольшие доли компонентов в общем объеме пищевого комка *A. stella* приходилось на моллюсков: *Buccinum undatum* (19 %), ювенильные особи семейства Littorinidae (17 %), *Setia latior* (15 %) и *Mytilus edulis* (14 %). По встречаемости объектов на первом месте стоят моллюски семейства Littorinidae (42 %), затем *Setia latior* (34 %) и *Mytilus edulis* (26 %).

Индекс пищевого сходства у актиний из двух географически разобщенных участков вблизи БС МГУ составил 54,5 %. Анализ показателя трофической значимости пищевых компонентов у актиний позволил выяснить, что основными объектами питания для актиний с первого участка являются *Mytilus edulis* (35 %) и ювенильные особи семейства Littorinidae (22 %). В то время, как на втором участке они чаще питаются моллюсками Littorinidae (50 %) и *Setia latior* (57 %).

По нашим данным, *A. stella* является активным хищником-зооэврифагом. В процессе питания эти актинии не выбирают, а используют имеющиеся пищевые ресурсы, и их пищевой спектр, как и у литоральных актиний из других районов Мирового океана, отражает состав населения их места обитания.

Роль длительных наблюдений и территориальных условий эксперимента в доминантно-субординантных отношениях у самцов лабораторных мышей в модели социального доминирования

А.В. Брагин

Институт цитологии и генетики Сибирского Отделения РАН

Электронная почта: bragin@bionet.nsc.ru

Социальное доминирование это адаптивный процесс, связанный с межранговой асимметрией по поведению причем, различия между особями разного социального ранга приводят к асимметричным физиологическим адаптациям, имеющим относительно длительный период становления [1]. В современных исследованиях по генетике и физиологии социального доминирования используют, как правило, краткосрочные методики наблюдений с разными типами территориальных условий. Цель данной работы: соответствует ли вывод о социальном ранге, полученный за короткое, единичное наблюдение, о таковом после долгосрочных наблюдений. Мы предположили, что поскольку в природе одна из главных функций социальной иерархии – уменьшение внутривидовой агрессии, то краткосрочное наблюдение не будет содержать информацию о падении агрессивности. Как известно, высокая агрессивность у самцов мышей характеризует в большей мере хозяев территории а не чужаков [2], то в настоящей работе мы также предположили, что при создании симметричных территориальных условий агрессия будет обоюдная у обоих самцов в паре и намного интенсивнее в том случае, если оба самца будут иметь территориальный статус хозяина территории по сравнению с отношениями на нейтральной территории. Для проверки этих гипотез мы использовали модель социального доминирования с минимальным социумом [3, 4].

Эксперимент показал, что за первый, 20-ти минутный агонистический тест только в 75-ти % пар самцов проявилась асимметрия по агрессии. В остальных случаях, асимметрия, как правило, проявлялась в течение первого дня опыта. В 10-ти % пар она зафиксирована во втором тесте. Причем в предыдущем тесте эти самцы побеждали обоюдно. После возникновения асимметрии по агрессии, инверсия по социальному рангу не наблюдалась. Время проявления асимметрии не совпадало со временем начала уменьшения интенсивности агрессии, то есть с наступлением периода поддержания социальной иерархии. Минимальные межранговые различия по агрессии проявлялись со 2-го дня опыта. В первый день опыта, на освоенной территории межсамцовая агрессия была интенсивнее, чем на нейтральной. На освоенной территории число пар самцов со «сложной асимметрией», характеризующейся наличием ответных атак, почти вдвое превышало это значение, полученное на нейтральной ($p < 0.001$). Интересно, что в период поддержания социальной иерархии, территориальные условия не влияли на поведение, но влияли на маркировочную активность и массу препуциальных желез. Та группа, самцы которой до первого взаимодействия освоили территорию, имела более четкие межранговые различия по этим показателям, чем группа с нейтральной территории.

Таким образом, хотя межранговая асимметрия по агрессии в 75-ти % случаев выявляется краткосрочным наблюдением, но одна из важных функций социального доминирования - минимизация агрессивности – возникает только через сутки после первого наблюдения. Это период поддержания социальной иерархии. Первичные территориальные условия эксперимента существенно определяют межранговые различия по агрессивности на этапе формирования отношений. Затем действие территориального фактора на агрессивное поведение исчезает, но сохраняется на уровне межранговых различий по маркировке территории и весу препуциальных желез.

СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gosling L.M., Roberts S.C., Thornton E.A., Andrew M.J. // *Behav. Ecol. Sociobiol.* 2000. V. 48. P. 328-332.
2. Hurst J.L. // *Anim. Behav.* 1993. V. 45. P. 55-81.
3. Брагин А.В., Осадчук Л.В., Осадчук А.В. // *Журн. высш. нерв. деят.* 2006. Т. 56. № 3. С. 412-419.
4. Брагин А.В., Осадчук Л.В., Осадчук А.В. // *Журн. высш. нерв. деят.* 2007. Т. 57. № 3. (в печати).

Внеклеточная фукоидан-гидролаза морского гриба *Penicillium fuscum*

О.А. Гордина¹, Ю.В. Бурцева²

¹Дальневосточный государственный университет

²Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: olika_1january@mail.ru

Полисахариды бурых водорослей (фукоиданы, ламинараны, альгиновые кислоты) разнообразны по своей структуре и биологической активности. Так фукоиданы проявляют антикоагулянтное, иммуномодулирующее, противоопухолевое и противовирусное действие. Несмотря на широкую известность этих полисахаридов, имеются трудности с установлением их структуры. Трудности связаны с тем, что содержание и структурные характеристики полисахаридов зависят не только от вида водоросли, но и от сезона сбора, возраста и т.д. Кроме того, структуры этих полисахаридов отличаются отсутствием регулярности и гетерогенностью. Для применения фукоиданов в качестве медицинских препаратов необходимо установить взаимосвязь между их структурой и биологической активностью. Для этого необходимы высокоспецифичные ферменты, катализирующие деградацию этих сложных полимеров на более короткие фрагменты. Такими ферментами являются фукоиданазы. Они относятся к классу О-гликозилгидролаз – ферментов, катализирующих гидролиз О-гликозидных связей в углеводсодержащих соединениях. Морские мицелиальные грибы, в свою очередь, представляют большой интерес как продуценты О-гликозилгидролаз.

Была проведена работа по подбору способов очистки фукоидан-гидролазы из культуральной жидкости морского гриба *Penicillium fuscum*, выращенного на модифицированной среде Тубаки с добавлением ламинарана в качестве источника углерода. Наиболее пригодной можно считать комбинацию методов ультрафильтрации, гель-фильтрации и гидрофобной хроматографии. Схема требует дальнейшей доработки.

Нами были исследованы продукты исчерпывающего гидролиза фукоидана из бурой водоросли *Fucus evanescens* фукоиданазой из *P. fuscum*. Согласно данным анализа, продуктами гидролиза фукоидана являлись моносахариды и олигосахариды различной степени полимеризации. Провели идентификацию моносахаридов: основным моносахаридом являлась фукоза с примесями маннозы и глюкозы, что связано с гетерогенностью субстрата. Таким образом, было достоверно установлено, что в присутствии ламинарана как источника углерода морской гриб *P. fuscum* способен биосинтезировать внеклеточную фукоидан-гидролазу. Анализ продуктов ферментативного гидролиза фукоидана позволяет предположить, что фермент действует по эндо типу.

Исследованы некоторые свойства фукоидан-гидролазы из *P. fuscum*. Установлен ее pH – оптимум, стабильность при добавлении NaCl и термостабильность. pH-оптимум фермента составил 4,5. Практически полная потеря активности наблюдалась за 10 мин при 60 °С. Показано, что уже в 0,25 М (NH₄)₂SO₄ фермент теряет свою активность практически полностью, а в растворах NaCl до концентрации 3 М фермент сохраняет активность. Было замечено, что стабильность фермента повышается при добавлении NaCl: при оптимальной концентрации NaCl 0,5 М потери активности не наблюдалось в течение двух недель.

Работа выполнена при поддержке фонда US Civilian Research and Development Foundation (grant RUXO - 003 - VL - 06) и фонда содействия отечественной науке, грантов президента Российской Федерации МК-4548.2006.4 и ДВО РАН №06-III-B-05-127, РФФИ № 06-04-48540-а и № 05-04-48291-а.

Состав полифенолов и фармакологические свойства клеточной культуры Маакии амурской *Maackia amurensis*.

О.В. Грищенко¹, К.В. Киселев¹, Г.К. Чернодод¹, М.В. Веселова², В.П. Булгаков¹

¹Биолого-почвенный институт, Дальневосточное отделение РАН

²Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: crab_ol@mail.ru

Маакия амурская *Maackia amurensis* Rupr. et Maxim. – уникальное реликтовое растение, единственный аборигенный древесный представитель сем. Бобовые *Fabaceae* на российском Дальнем Востоке. Ядровая древесина этого растения содержит комплекс полифенолов, обладающий выраженным гепатопротективным действием. В народной медицине настой из древесины маакии широко используется при заболеваниях печени. На основе полифенольного комплекса (ПФК) маакии создан препарат Максар, который по активности превосходит все известные на сегодняшний день гепатопротекторы (Саратиков и др., 2005). Было показано, что основными компонентами ПФК препарата Максар являются мономерные стильбены резвератрол и пицеатаннол; изофлавоностилбены маакиазин; изофлавоны генистеин, дайдзеин, ретузин, афромозин, формонетин, оробол, текторигенин, 3-гидроксивеститон; птерокарпаны маакиин и медикарпин (Федореев и др., 2004).

Данные ценные фармакологические свойства маакии вызывают биотехнологический интерес, и, как возможный альтернативный источник ПФК для производства гепатопротекторного препарата, была получена клеточная культура Маакии амурской. Культуру клеток маакии выращивали на модифицированной среде Мурасиге и Скуга (Bulgakov et al., 1998), с добавлением БАП 0,5 мг/л и АНУ 2,0 мг/л. Эксперименты по оптимизации сред показали, что именно данное сочетание гормонов обуславливает наиболее высокие рост и биосинтез вторичных метаболитов в культуре маакии.

Фармакологические исследования, проведенные в Сибирском государственном медицинском университете, показали, что ПФК из клеток маакии обладает более выраженной гепатопротективной активностью по сравнению с Максаром. Был исследован состав полифенольной фракции из клеток, вещества определяли методами ВЭЖХ и ЯМР в ТИБОХ ДВО РАН (табл. 1).

Оказалось, что состав полифенолов отличается от такового в Максаре. Основу ПФК клеток составляют изофлавоноиды, а содержание мономерных стильбенов незначительно (менее 0,03% от сухой массы клеток). Сумма полифенолов в экстракте из клеток составляет, в среднем, $1,668 \pm 0,143\%$ от сухой массы клеток. Данные просчитаны из нескольких независимых экспериментов.

Таким образом, более высокая гепатопротективная активность экстракта из клеток обусловлена содержанием в ней изофлавоноидов.

Саратиков А.С., Чучалин В.С., Ратькин А.В., Ратькин Е.В., Федореев С.А., Булгаков В.П. // Эксп. клин. фармакол. 2005. Т. 68. С. 51-54.

Федореев С.А., Кулеш Н.И., Глебо Л.И., Покушалова Т.В., Веселова М.В., Саратиков А.С., Венгеровский А.И., Чучалин В.С. // Хим.-фарм. ж. 2004. Т.11. С. 22-26.

Bulgakov V.P., Khodakovskaya M.V., Labetskaya N.V., Chernoded G.K., Zhuravlev Y.N. // РНУТОСЕМ. 1998. V. 49. P. 1929-1934.

Табл. 1. Содержание полифенолов в культуре клеток *M. амурской*.

Вещество	% от сухой массы клеток, ± ст. ошибка
p-оксибензойная кислота	0,005 ± 0,002
Изофлавоны, изофлаваны и их соединения	
4'-O-β-D-гликопиранозилдайдзин	0,023 ± 0,015
4'-O-β-D-гликопиранозилгенистин	0,065 ± 0,033
дайдзин	0,062 ± 0,008
3'-метоксидайдзин	0,012 ± 0,002
7-O-β-D-гликопиранозилкаликозин	0,064 ± 0,012
генистин	0,138 ± 0,021
6"-O-Малонилгенистин	0,045 ± 0,017
ононин	0,085 ± 0,012
дайдзеин	0,030 ± 0,010
каликозин	0,025 ± 0,008
6"-O-малонилононин	0,249 ± 0,048
генистеин	0,006 ± 0,001
формононетин	0,065 ± 0,010
деррон	0,032 ± 0,009
веститол	0,002 ± 0,001
изоликвиритигенин	
Прерокарпаны и их гликозиды	
6"-малонил-3-O-β-D-гликопиранозил-6,6a-дигидромаакиаин	0,124 ± 0,025
6"-малонил-3-O-β-D-гликопиранозилмаакиаин	0,393 ± 0,100
6"-малонил-3-O-β-D-гликопиранозилмедикарпин	0,109 ± 0,017
маакиаин	0,058 ± 0,014
медикарпин	0,049 ± 0,004
Мономерные стильбены	
резвератрол	0,012 ± 0,001
пицеаттанол	0,015 ± 0,001
∑ полифенолов	1,668 ± 0,143

Состав, распределение и хемотаксономическое значение жирных кислот рифообразующих кораллов

Д.А. Демидкова

Институт биологии моря, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: darya-demidkova@rambler.ru

Экосистемы коралловых рифов являются уникальными природными объектами и определяют своеобразие и продуктивность тропических прибрежных вод. Обладая огромной биомассой, кораллы производят большое количество органического вещества, играют ключевую роль в сообществе коралловых рифов, вступая с другими организмами в сложные трофические и симбиотические отношения, поэтому биохимические исследования рифообразующих кораллов находятся в центре внимания многих ученых.

Липиды кораллов – это не только “строительный материал” для биологических мембран клеток кораллов, но и основной резервный источник энергии, они вовлечены во многие биохимические и физиологические процессы кораллов. Изменения в пищевой базе, экологических условиях, или здоровье этих симбиотических животных отражаются на их липидном составе, поэтому сравнительный анализ состава этой группы веществ может дать ценные данные для хемосистематики этой группы животных, предоставить сведения об их трофических связях, составе пищи и путях переноса органического вещества между симбионтами этих колониальных организмов, однако, в настоящее время остается открытым вопрос, какой таксономический уровень является границей применения ЖК, как хемотаксономических маркеров рифообразующих кораллов.

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

Объектами исследования являлись кораллы тропических вод Вьетнама, принадлежащие к шести семействам (Acroporidae, Pocilloporidae, Poritidae, Faviidae, Pectiniidae, и Fungiidae).

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 родам, Acroporidae, Pocilloporidae, Poritidae, Dendrophyllidae и Milleporidae, собранных в водах Вьетнама и Сейшельских островов (Latyshev et al., 1991).

В данной работе был определен состав жирных кислот общих липидов рифообразующих кораллов тропических вод Вьетнама: *Acropora cerealis*, *A. formosa*, *A. gemmifera*, *A. palifera*, *A. nobilis*, *Seriopora hystrix*, *Porites lobata*, *P. nigrescens*, *Favia* spp., *Echinophyllia orpheensis* и *Sandalolitha robusta*. Основными ЖК являются - 16:0, 18:0, 14:0, 16:1n-7, 18:1n-9, 18:3n-6, 18:4n-3, 20:3n-6, 20:4n-6, 20:4n-3, 20:5n-3, 22:4n-6, 22:5n-3 и 22:6n-3.

В кораллах рода *Porites* были обнаружены моно-, ди-, три- и тетраеновые C24 жирные кислоты, которые отсутствовали в других представителях класса Hexacorallia. В *S. robusta* отмечен высокий уровень 18:1n-7 (3,6%), наличие разветвленных и «нечетных» кислот (в сумме 3,9%), что может служить указанием на присутствие развитого бактериального сообщества.

Многофакторный статистический анализ содержания главных полиненасыщенных жирных кислот в 35 образцах рифообразующих кораллов, принадлежащих к 8 семействам, показал, что состав жирных кислот может служить хемотаксономическим признаком для этой группы морских организмов на уровне семейства. Полученное хемотаксономическое разделение семейств кораллов определяется главным образом разницей в содержании C22 полиненасыщенных жирных кислот, основным источником которых могут быть разные фенотипы зооксантелл, специфические для данных семейств.

Изучение взаимосвязи «структура – рострегулирующая активность» в ряду природных и синтетических циклопентановых β,β' -трикетонов на примере проростков гречихи

Е.А. Демина, О.П. Шестак, В.Л. Новиков, М.М. Анисимов

Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: dminae@mail.ru

β,β' -Трикетонный фрагмент в том или ином виде входит в состав разнообразных по строению природных соединений. Циклопентановые β,β' -трикетоны встречаются в природе крайне редко. К настоящему времени из высших растений выделено только четыре свободных трикетона и три их енольных эфира. Синтетическим путем получено значительное число аналогов природных 2-ацилциклопентан-1,3-дионов, боковая цепь которых представлена ацильными радикалами как природного, так и неприродного типов, включая простейший из них – ацетил [1-4].

Метилвые енольные эфиры природных циклопентановых β,β' -трикетонов по енольной группировке боковой цепи обладают сильным противогрибковым действием в отношении *Cryptococcus neoformans* и *Candida albicans*, в том числе флуконазол-устойчивых штаммов [3]. Причем 2-(1'-метоксиметил)циклопент-4-ен-1,3-дионовый кор этих соединений является ответственным за проявление фунгицидного эффекта. Сами природные циклопентановые трикетоны проявляют высокую антибактериальную и цитотоксическую активности, а также ингибирующее действие в отношении некоторых ферментов, играющих важную роль в развитии злокачественных и воспалительных процессов, заболеваний сердечно-сосудистой системы [2, 4, 5].

Синтетические 2-ацетилциклопентан-1,3-дионы проявляют противомикробную, противогрибковую, противоопухолевую, цитотоксическую и фермент-ингибирующую активности [1, 6]. Для некоторых из них обнаружено рострегулирующее действие на проростки огурца *Cucumis sativus* L. [7].

Нами было проведено систематическое изучение зависимости рострегулирующего действия ряда природных циклопентановых трикетонов и их синтетических аналогов, прежде всего простейшего 2-ацетилциклопент-4-ен-1,3-дионного типа, на рост корня проростков гречихи *Fagopyrum esculentum* Moench. Обнаружено, что в концентрации 10.0 мкг/мл и выше все изученные соединения действуют как ингибиторы роста корня проростков. Наличие или отсутствие двойной связи C(4)=C(5) в структуре соединений, а также ее сдвиг в алкильный радикал при C(4) играют важную роль в проявлении этого эффекта. Природа заместителей при C(4) и C(5) в изученных трикетонах и их число также существенно влияют на уровень их активности. Синтетические трикетоны с COCH₃ группой при C(2) являются более сильными ингибиторами роста, чем природные трикетоны с COCH=CHC₆H₅ группой в этом же положении.

Таким образом, природные и синтетические циклопентановые β,β' -трикетоны являются эффективными регуляторами роста растений с выраженной зависимостью активности от структуры.

Работа поддержана грантами ДВО РАН № 06-III-A-05-120 и № 06-II-CX-05-002.

Литература

1. Шестак О.П. // Дисс. канд. хим. н. Владивосток, 1987. 210 с.
2. Aoyama Y. et al. // Bioorg. Chem. Lett. 2001. V. 11. P. 1695-1697.
3. Li X.-C. et al. // J. Am. Chem. Soc. 2004. V. 126. P. 6872-6873.
4. Babu K. S. et al. // J. Med. Chem. 2006. V. 49. P. 7877-7886.
5. Oh H.M. et al. // Bioorg. Med. Chem. 2005. V. 13. P. 6182-6187.
6. Шестак О.П. и др. Хим.-фарм. журн. 1999. Т. 33. №1. С. 18-21.
7. Новиков В. Л. и др. // Раст. ресурсы. 2003. Вып. 4. С. 87-94.

**Исследование загрязнения атмосферы в результате лесных пожаров
в наиболее крупных населённых пунктах ЕАО.**

А.М.Дорошенко

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

В работе [1] нами было посчитано количество поллютантов, выделяемых в атмосферу ЕАО с 1997-2002г.г. вследствие лесных пожаров, из чего следует, что в больших объемах выделяются углеводороды, окись углерода, взвешенные частицы.

По данным статистического ежегодника ЕАО [3] в период возрастания численности пожаров (с 1998 по 2001 г.г.) наблюдается рост количества заболеваний психического расстройства, органов дыхания, а так же возрастания количества осложнений беременности и послеродового периода, врождённые аномалии.

Распространение загрязнителей, выделяемых вследствие лесных пожаров, осуществляется с помощью ветра. Для выяснения направления распространения вредных веществ нами были изучены розы ветров в пожароопасный период в двух наиболее крупных населенных пунктов ЕАО: г. Биробиджан, г. Облучье. [2] в пожароопасный период преобладают ветра западного и северо-западного направления. Таким образом распространение вредных веществ в следствии лесных пожаров в г. Биробиджан будет иметь восточное направление, а в г.Облучье юго-восточное направление.

При наложении схем направления ветров и распространения пожаров с 1998 по 2001 г.г. можно заключить, что выбросы, поступающие в атмосферу вследствие лесных пожаров, будут перемещаться в северо-восточном направлении, и будут оказывать негативное влияние на атмосферу г. Биробиджан, а так же населённых пунктов прилегающие к ДВЖД.

Исследуя направление распространения вредных веществ в пожароопасный период можно заключить, что при переносе ветром они могут влиять на качество атмосферы в данных населенных пунктах. Таким образом, можно заключить, что население, проживающее на данной территории, будет наиболее подвержено воздействию вредных веществ, выделяющихся при лесных пожарах, и можно прогнозировать рост числа заболеваний, вызываемых данными веществами.

Таким образом, в ходе нашего исследования был проведён анализ пространственного распространения пожаров на территории ЕАО. Установлено влияние загрязнителей, выделяемых при лесных пожарах на атмосферу ЕАО. Определёно влияние вредных веществ на атмосферу г. Биробиджан и г. Облучье.

Литература

1. Дорошенко А.М. Исследование загрязнения атмосферы в результате лесных пожаров. X Международная молодёжная школа-конференция по актуальным проблемам химии и биологии. Владивосток ТИБОХ, фундаментальные исследования морской биоты ДВГУ, ТИГ 12-19 сентября 2006
2. Справочник по климату СССР вып. 25 ч. 3 «Ветер», - Л: Гидрометеиздат 1967 г.
3. Статистический ежегодника Еврейской автономной области 2001.

Влияние гена *rolB* агробактерий на биосинтез резвератрола в культуре клеток винограда (*Vitis amurensis* Rupr.)

А.С. Дубровина^{1,2}, К.В. Киселев¹, В.П. Булгаков¹

¹Биолого-почвенный институт, Дальневосточное отделение РАН

²Дальневосточный государственный университет

Электронная почта: as_dubrovina@mail.ru

Виноград содержит ряд биологически активных веществ, обладающих ценными свойствами. Среди них самое известное – это резвератрол (3,5,4'-тригидроксистильбен). Резвератрол – это мощный антиоксидант, антиканцероген, обладает ярким положительным эффектом на сердечно-сосудистую, нервную систему организма и имеет большой потенциал для создания на его основе различных лекарственных средств и биологически активных добавок к пище.

Для активации синтеза резвератрола в культуре клеток дикого винограда была использована трансформация геном *rolB* почвенных бактерий *Agrobacterium rhizogenes* (Kiselev et al., 2007). В результате получена клеточная культура – суперпродуцент резвератрола. Содержание резвератрола достигало 3,15 % от сухой биомассы клеток, что превысило в 100 раз его содержание в нетрансгенной культуре клеток, а также в известных из литературы клеточных культурах растений – аналогах данной разработки. Показано, что многократное увеличение содержания резвератрола – это эффект действия именно гена *rolB* (Kiselev et al., 2007). Интересен механизм активации синтеза резвератрола геном *rolB*.

Биосинтез стильбенов, в том числе и резвератрола, идет фенилпропаноидным путем. Фенилаланинаммиакиаза (*PAL*) – первый фермент в этом пути, катализирует дезаминирование фенилаланина, превращая его в коричную кислоту. Ключевым ферментом в синтезе резвератрола и его производных является стильбенсинтаза (*STS*). *STS* конденсирует три молекулы малонил-КоА с одной молекулой кумарил-КоА, конечным продуктом этой реакции является резвератрол. *STS* и *PAL* принадлежат к мультигенным семействам ферментов.

Мы исследовали экспрессию ключевых генов биосинтеза резвератрола (*PAL* и *STS*) в трансгенной культуре клеток винограда (VB2) и контрольной (VV). С помощью полуколичественного ОТ-ПЦР, с использованием дегенеративных праймеров к консервативным участкам *PAL* и *STS*, показана общая экспрессия генов в исследуемых клеточных культурах. Визуальные результаты электрофореза соответствуют результатам количественного анализа ПЦР-проб, полученных с помощью прибора Agilent 2100 Bioanalyzer.

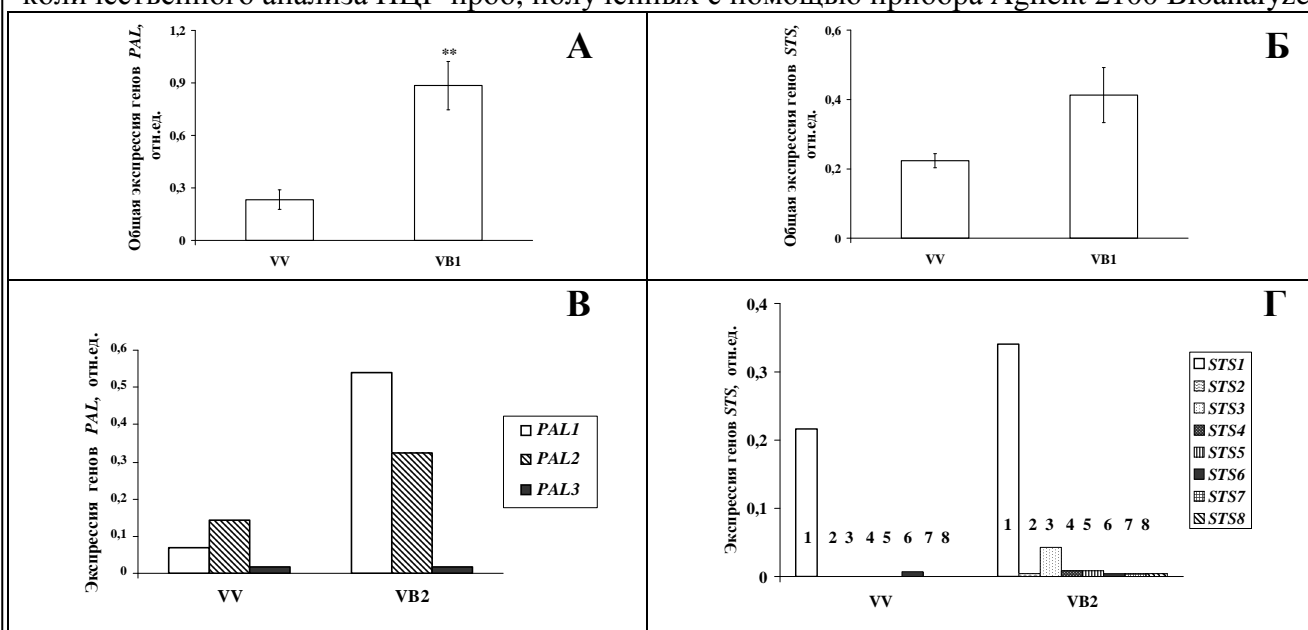


Рис. 1. Экспрессия генов *PAL* и *STS* в культурах винограда; А и Б - общая экспрессия генов мультигенных семейств *PAL* и *STS*; В и Г - экспрессия отдельных генов *PAL* и *STS*.

Оказалось, что общая экспрессия генов семейства *PAL* в трансгенной VB2 культуре превышает экспрессию в нетрансгенной культуре клеток, однако не более чем в 6 раз (рис.1а). Общая экспрессия генов семейства *STS* выше, но в пределах ошибки эксперимента (рис.1б). ПЦР-продукты были клонированы, и для каждой из трех культур было секвенировано от 40 до 100 клонов *PAL* и *STS*. В результате сравнения секвенированных последовательностей выделено три гена семейства *PAL* – *VaPAL1*, *VaPAL2* и *VaPAL3*; 8 генов семейства *STS* – *VaSTS1-VaSTS8*. Экспрессию каждого гена высчитывали в относительных единицах на основе процентного состава клонов и имеющихся данных об общей экспрессии (рис.1в,г). Относительные единицы высчитывались по формуле: нормализованная относительно актина винограда экспрессия генов *STS* и *PAL* × % клонов каждого гена / 100. Показано, что общая экспрессия генов *PAL* повышена в трансгенной VB2 культуре за счет увеличения экспрессии *VaPAL1* и *VaPAL2* (рис.1в), а также незначительно увеличен уровень экспрессии генов семейства *STS*, но не только путем повышения экспрессии преобладающего гена (*VaSTS1*), но и за счет появления 6 генов (*VaSTS2*, *VaSTS3*, *VaSTS4*, *VaSTS5*, *VaSTS7* и *VaSTS8*), не найденных в контрольной культуре (рис.1г).

Таким образом, показано, что действие гена *rolB* на биосинтез резвератрола связано с активацией экспрессии определенных генов из мультигенных семейств *PAL* и *STS*.

Kiselev K.V., Dubrovina A.S., Veselova M.V., Bulgakov V.P., Fedoreyev S.A. and Zhuravlev Y.N. // J. Biotechnology 2007. V. 128. P. 681-692.

Новые противораковые вещества из морских губок *Aaptos* sp. и *Guitarra abbotti*

С.А. Дышловой¹, С.Н. Федоров²

¹Дальневосточный государственный университет

²Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: dishlovoy@mail.ru

Морские губки являются богатым источником природных соединений, проявляющих разнообразные виды биологической активности и принадлежащих к различным структурным группам. После скрининга на антилейкемическую активность 21 вида морских губок, собранных в различных частях мирового океана, мы выбрали для изучения два вида, *Aaptos* sp. и *Guitarra abbotti*, которые показали активность этанольных экстрактов против раковых клеток ТНР-1 (лейкемия человека) в концентрациях менее 1 мг/мл.

Выделение веществ из экстрактов двух вышеупомянутых видов губок проводилось методами экстракции, колоночной хроматографии и HPLC на прямой и обращенной фазах. Антилейкемическая активность экстрактов, фракций, смесей веществ и индивидуальных соединений на каждом этапе выделения оценивалось с помощью MTS-метода¹.

Из губки *Aaptos* sp., наряду с известным 9-деметилоксияаптамином (**1**), было выделено новое соединение (**3**), являющееся устойчивым таутомером ранее известного ааптамина (**2**) (рис. 1). Структуры алкалоидов (**1**) и (**3**) были идентифицированы с известными с помощью сравнения ¹H и ¹³C ЯМР, а также масс-спектров. Для 9-деметилоксияаптамина (**1**) в литературе есть сведения об антивирусной активности против вируса HSV-1 (IC₅₀ = 0.002 мг/мл)². В нашем исследовании алкалоиды (**1**) и (**3**) показали активность против клеток ТНР-1: для 9-деметилоксияаптамина (**1**) IC₅₀ = 0,0053 мг/мл, для таутомера ааптамина (**3**) IC₅₀ = 0,0212 мг/мл.

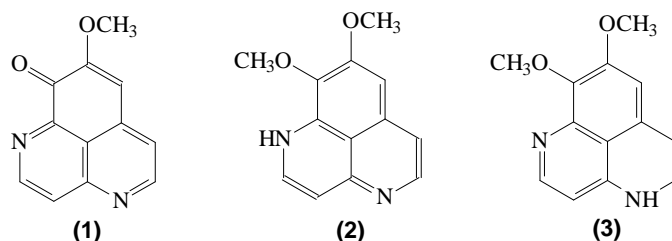


Рис. 1. 9-деметилоксияаптамин (**1**), ааптамин (**2**) и его таутомер (**3**)

Из губки *Guitarra abbotti* была выделена смесь производных глицерина и C₁₆-C₂₄-спиртов (рис. 2), аналогов известного 1-О-гексадецилглицерина^{3,4} (**4**), отличающихся друг от друга структурой углеводородного остатка.

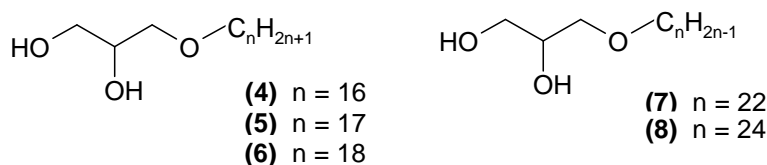


Рис. 2. Смесь производных глицерина и C₁₆-C₂₄-спиртов.

Структуры выделенных соединений в виде компонентов смеси были исследованы спектральными методами с использованием ЯМР и масс-спектроскопии. Соединения (**7**) и (**8**) являются новыми. Известно, что вещество (**4**) проявляет антимикробную активность³. Исследуемая смесь показала умеренную активность против клеток ТНР-1: IC₅₀ = 0,06 мг/мл.

¹Baltrop J., Owen T., Cory A., Cory J. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 1991, V. 1. P. 611-614.

²Coutinho A., Chanas B., Souza T., Frugrullhetti I., Epifanio R. // Heterocycles. 2002. V. 57. P. 1265-1272.

³Gustafson K., Andersen R. // Tetrahedron. 1985. V. 41. P. 1101-1108.

⁴Pettit G., Fujii Y. // J. Nat. Prod. 1982. V. 45. P. 640-643.

**Синтез спин-меченного человеческого сывороточного альбумина.
Влияние гликирования на связывание альбумином поли(А)-последовательности**

И.А. Ерченко¹, Ю.В. Герасимова^{1,2}, Н.В. Кудряшова^{1,2}, А.С. Чубаров¹, Э.Т. Костина¹,
Т.В. Попова², Т.С. Годовикова^{1,2}

¹Новосибирский государственный университет

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины,
Сибирское отделение РАН

Электронная почта: irina_e@ngs.ru

Человеческий сывороточный альбумин (ЧСА) играет важную роль в депонировании и переносе ряда эндо- и экзогенных веществ, в том числе внеклеточных нуклеиновых кислот, в плазме крови. Известно, что 6–15% от общего количества циркулирующего альбумина составляет клинически значимая форма белка – гликированный альбумин (Glu-ЧСА). Модификация альбумина может влиять на функционирование белка как переносчика лигандов и регулятора их межклеточного движения.

В настоящей работе было исследовано влияние гликирования альбумина на его сродство к поли(А)-последовательности. Для этого был получен Glu-ЧСА *in vitro* путем инкубации белка с D-глюкозой и охарактеризован методами MALDI-TOF масс-спектрометрии и флуоресцентной спектроскопии. По данным MALDI-TOF-анализа Glu-ЧСА содержит 15 молекул глюкозы, что соответствует структуре белка, выделенного из крови больных некомпенсированной формой диабета. С помощью капиллярного электрофореза было обнаружено, что гликированный ЧСА связывает поли(А) более эффективно, чем немодифицированный белок ($K_d = 0.7 \times 10^{-5}$ М и 1.3×10^{-5} М, соответственно). Аналогичные результаты по влиянию модификации на связывание ЧСА с полинуклеотидом были получены с помощью аффинной хроматографии на поли(А)-содержащем сорбенте.

С целью изучения взаимодействия ЧСА с экзогенными лигандами (например, лекарственными средствами и их метаболитами), а также исследования динамики распределения лиганд-ассоциированных комплексов альбумина в организме человека, требуется введение в состав ЧСА репортерных групп, а также групп, способных избирательно модифицировать биологические мишени. Для этого широко применяются реагенты, модифицирующие SH-группы бокового радикала цистеина. Однако единственный в альбумине, не вовлеченный в образование дисульфидных мостиков остаток Cys³⁴, участвует в образовании ковалентных аддуктов с находящимися в циркуляции тиол-содержащими лигандами. Поэтому возникает необходимость дополнительного введения в белок групп, по которым может протекать модификация. В данной работе это было реализовано путем получения N-гомоцистеинилирования альбумина – клинически значимой формы альбумина, реализующейся *in vivo*.

N-Гомоцистеинилированный ЧСА (Hcy-ЧСА) получали *in vitro* путем инкубации белка с тиолактоном N-ацетилгомоцистеина в псевдофизиологических условиях. По данным MALDI-TOF-анализа, Hcy-ЧСА содержит 2 молекулы N-ацетилгомоцистеина на одну молекулу белка. Для присоединения к альбумину спиновой метки модифицированный белок инкубировали с N-(1-оксил-2,2,5,5-тетраметил-3-пирролидинил)иодоацетамидом (I) при 0 °С в течение 29 ч. Периодически отбирали из реакционной смеси аликвоты и, после очистки от метки (I), определяли в них содержание сульфгидрильных групп и регистрировали ЭПР-спектры. По мере возрастания длительности реакции между альбумином и соединением (I), согласно ЭПР спектрам, количество присоединённой к альбумину метки увеличивается. По истечению 6.5 ч, спин-меченный альбумин не давал жёлтого окрашивания при взаимодействии с реагентом Элмана. Это свидетельствует о связывании всех свободных SH-групп со спиновой меткой (I). Дальнейшие изменения в ЭПР спектрах модифицированного белка, вероятно, обусловлены алкилированием соединением (I) менее реакционноспособных аминокислотных остатков лизина.

Анализ коррозионноопасной смешанной культуры СВБ, выделенной из Приобского нефтяного месторождения

О.В. Зайцева

Самарский государственный университет

Электронная почта: biomig@rambler.ru

По оценкам специалистов нефтегазовой промышленности, биокоррозия является причиной от 20 до 80% аварийных случаев, которые приводят к огромным экономическим потерям и ухудшению экологической обстановки [1]. Поэтому необходим контроль коррозионноопасной микрофлоры, присутствующей в месторождениях. Нами была выделена и проанализирована смешанная культура СВБ, выделенная из Приобского нефтяного месторождения.

Анализ роста смешанной культуры на разных субстратах показал, что данная культура включает в себя сульфидогенные бактерии различных метаболических путей. Окраска клеток по Грамму показала преобладание в культуре грам(+) бактерий, хотя небольшое количество грам(-) бактерий присутствовало. Морфология изученных клеток сильно различалась. В культуре присутствовали в основном прямые палочковидные клетки размером 0,5-1 x 1-4 мкм, реже встречались изогнутые палочки и кокковидные клетки. Также присутствовали в большом количестве спорообразующие клетки. Мы считаем, что преобладают бактерии рода *Desulfotomaculum*, так как этот род является грам(+), клетки могут долго сохраняться в продуктах коррозии, находящихся на воздухе, за счет спорообразования, данный род использует лактат, ацетат и этанол как доноры электронов. Рода *Desulfovibrio* и *Desulfobacter* являются грам(-). *Desulfovibrio* использует лактат и некоторые штаммы этанол, *Desulfobacter* – ацетат. Ни один из этих двух родов не использует бензоат [2]. Бактерии данной культуры являются облигатными анаэробами, мезофилами, рост и образование сероводорода наблюдали в диапазоне температур от 15⁰ до 45⁰ С с оптимумом 30-32⁰ С. Культура растет при концентрации от 1 до 5% NaCl в среде, оптимальной является среда, содержащая 1% NaCl. Смешанная культура хорошо растет на среде без дрожжевого автолизата, но его внесение увеличивает продукцию сероводорода в среднем на 7%.

Исходя из данных результатов, мы сделали вывод, что в смешанной культуре СВБ преобладает род коррозионноопасных бактерий *Desulfotomaculum*, в меньшем количестве присутствуют бактерии родов *Desulfovibrio* и *Desulfobacter*.

1. Асфандияров Ф.А., Кильдибеков И.Г., Низамов К.Р. Методы борьбы с сульфатвосстанавливающими бактериями и вызываемой ими коррозией стали. - М.: ВНИИОЭНГ, 1983. 32 с.

2. Widdel F., Pfennig N. Dissimilatory sulfate- or sulfur-reducing bacteria // Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (IX ed.). Baltimor: William & Wilkins, 1984. V. 1. P. 663 - 679.

**Спектрофотометрическое определение
подвижных соединений марганца в пробах почвы**

Е.И. Иванова, А.С. Шарина, В.В. Аньшакова
Якутский государственный университет им. М.К. Аммосова
Электронная почта: iei77@mail.ru

В данной работе представлены результаты анализа пробы черноземных почв на содержание подвижных соединений марганца. В обмене марганца большую роль играет значение рН, а также почвенные микроорганизмы, которые в зависимости от сезона года проявляют разную активность.

Исследованы пробы почвы разных участков посевного поля лаборатории агроэкологии ЯНИИСХ с различной предпосадочной обработкой. Обработка проводилась разными растворами микроорганизмов (растворы №№ 3,4,5), а также с добавлением удобрений, содержащих микроэлементы (Mn, Cu, Mo).

Химический анализ почвенных вытяжек на содержание марганца проводился на спектрометре “Lambda –20” фирмы PERKIN ELMER. Для определения содержания подвижных соединений марганца в пробах почв использовали методику Крупского и Александровой [1].

Оптимальные условия образования комплекса создаются при рН = 8÷10 и большом избытке реагентов. Нами исследовано изменение поглощения раствора комплексного соединения во времени и установлено, что максимум поглощения раствора достигается только через 30 минут.

Таблица. Содержание марганца в пробах почв

№ пробы	Предпосадочная обработка	Массовая доля марганца в почве, мг/кг	
		Проба 2000 г.	Проба 2001 г.
1	Вода	8,2 ± 0,1	3,7 ± 0,2
2	Раствор №3	6,5 ± 0,1	5,0 ± 0,2
3	Раствор №5	4,7 ± 0,5	5,6 ± 0,1
4	Раствор №3 + Mn	4,4 ± 0,6	3,9 ± 0,4
5	Раствор №3 + Cu	7,9 ± 0,1	4,9 ± 0,5
6	Раствор №3,4,5 + Cu	4,2 ± 0,1	4,1 ± 0,6
7	Раствор №3,4,5 + Mn, Cu, Mo	6,9 ± 0,1	4,6 ± 0,8

Как видно из табл., исследованные пробы характеризуются содержанием подвижных соединений марганца от 4,2 до 8,2 мг/кг, т.е. ниже ПДК, которая в почвах в случае применения ацетатно-аммонийного экстрагирующего раствора равна – 140 мг/кг [2].

Для агрономии очень важно установить обеспеченность почв подвижными формами микроэлементов. Для этого мы использовали шкалу градаций, приведенную в работе [3]. Исследованные пробы почв пригодны для выращивания групп растений невысокого потребления Mn. Результаты анализа проб почвы этого же посевного поля на следующий год показали, что содержание подвижных форм марганца в 2001 г понижается.

Литература

1. Почвы. Определение подвижных соединений марганца по методу Крупского и Александровой в модификации ЦИНАО. ГОСТ Р50685-94.-М.: Госстандарт России, 1994.- 12с.
2. Перечень предельно-допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно-допустимых количеств (ОДК) химических веществ в почве. – М.: Медицина, 1993.
3. Физико-химические методы исследования почв./ Под ред. Н.Г. Зырина, Д.С. Орлова. – М.: Изд-во МГУ, 1980. – 382 с., ил.

Геохимическая трансформация почвенного покрова урбанизированных территорий (на примере г. Биробиджана)

В.Б. Калманова

Институт комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН

Электронная почта: kalmanova@yandex.ru

В условиях урбанизированной среды трансформируются все природные компоненты, в том числе почвы, так как они представляет собой одну из основных аккумулирующих систем, которая принимает на себя все поступившие в окружающую среду загрязнения. Однако буферная способность почв к промышленному загрязнению не беспредельна. В результате антропогенных изменений почва сама может стать средой, токсичной для роста и развития растений, источником дополнительного загрязнения городской среды. Глубокие нарушения и изменения почвенного покрова приводят к трансформации геохимических потоков на данной и прилегающих территориях и появлению аномалий различного уровня.

Город Биробиджан относится к Буреинской ландшафтно-геохимической провинции, для которой характерно высокое содержание железа, кислая реакция среды. При геохимической оценке, в качестве дифференциальных показателей состояния почв были использованы: ПДК, СПК, эталонная территория.

Для характеристики современного состояния почв г. Биробиджана проведены четырехлетние (2003—2006 г.) исследования содержания ТМ на 60 пробных площадках размером 10*10 м, заложенных в различных, функциональных зонах города со сгущением их вдоль автомагистралей и промышленных объектов. Химический анализ почв проводился в биохимической лаборатории в ФГУЗ «ЦГиЭ в ЕАО» методом атомно-адсорбционной спектроскопии. Определялось содержание подвижных форм ТМ: Pb, Cu, Zn, Mn, Fe, Cd, Ni, Co. Проведенное исследование показало, что в городских почвах обнаружено превышение Zn, Cu, Ni, Co, Cd, а также Pb. Кроме того, в связи с природными геохимическими особенностями территории, в почвах Биробиджана находится повышенное содержание железа (2,7 раз выше фонового) и низкая концентрация марганца (2-7 раз ниже фонового).

Для получения комплексной картины загрязнения городских почв был произведен расчет суммарного показателя концентрации (СПК) ТМ.

Среди исследуемых пробных площадок выявлено 5 уровней литоаномалий, среди которых преобладают уровни слабого, среднего и высокого загрязнения, имеются также относительно чистые территории с комплексным содержанием ТМ менее 1 и экологически опасные районы. В среднем экологическое состояние почв города может быть признано удовлетворительным.

Проведенные исследования показали, что в основном почва загрязнена в промзонах, вдоль железной дороги и автомагистралей; в районах частного сектора и сельскохозяйственных угодий. Кроме того, наблюдается значительное загрязнение почв парков и скверов, что объясняется сильным антропогенным воздействием на эти территории и типом почв. Уровень загрязнения почв фоновой территории, а также отдаленных участков земли от центральной автомагистрали, промзон очень низкий.

Почва в городе с высокой степенью концентрации промышленности и плотностью населения уже не способна самостоятельно справиться с проблемой загрязнения. Необходимо проводить ежегодно контроль за загрязнением почвы, особенно на территориях, прилегающих к промышленным комбинатам, автомагистралям. Кроме того, важно следить за загрязнением снежного покрова, так как с таянием снегов поллютанты поступают на поверхность ландшафта, а также за растительностью. Очищение почвы от технических масс ТМ невозможно с помощью инженерно-мелиоративных мероприятий, наиболее перспективным представляется использование фиторемедиации, хотя оптимальный в экологическом отношении метод пока находится в состоянии опытных разработок. Полученные результаты могут быть учтены при разработке перспективных программ развития городских территорий и сохранения объектов окружающей среды.

Работа выполнена при поддержке гранта ДВО РАН (№ 06-III-A-09-389)

Сравнительная морфологическая характеристика и классификация ганглиозных клеток сетчатки крупночешуйного угая *Tribolodon hakonensis* (Pisces: Cypriniformes: Cyprinidae)

Ю.А. Каретин^{1,2}, А.С. Бардеева², И.И. Пушин²
¹Дальневосточный государственный университет
²Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН
Электронная почта: karetin_yu@imb.dvo.ru

Ганглиозные клетки – «выходные» нейроны сетчатки. Они участвуют в обработке зрительной информации и передаче её в зрительные центры головного мозга. Выделение дискретных типов ганглиозных клеток сетчатки необходимо для детального изучения их морфо-функциональных свойств и участия в процессинге зрительной информации в сетчатке. Помимо этого, типизация этих клеток делает возможным выяснение путей их эволюционных преобразований и филогенетических отношений в ряду позвоночных.

Цель настоящей работы - анализ морфологии и классификация ганглиозных клеток сетчатки крупночешуйного угая *Tribolodon hakonensis*. Ганглиозные клетки окрашивали методом прижизненного ретроградного мечения пероксидазой хрена из зрительного нерва, наблюдали и изучали на тотальных препаратах сетчатки с использованием стандартных методов световой микроскопии. Используя оцифрованные изображения клеток, оценивали ряд параметров клеточной организации, связанных с размерами тел и дендритных полей, а также с особенностями хода, ветвления и микроскульптуры дендритов.

По результатам кластерного анализа было выделено пять кластеров, потенциально соответствующих клеточным типам. Ранговый дисперсионный анализ выявил высокодостоверные ($P < 0,001$) различия между выделенными типами по переменным кластеризации.

Тип 1. Крупные клетки с большими телами. Дендритное поле асимметрично, эллиптической формы. Тело клетки занимает ортотопическое положение либо смещено во внутренний сетчатый слой. Дендриты сравнительно редко ветвятся. Дендритное древо стратифицировано в склеральной зоне внутреннего сетчатого слоя.

Тип 2. Клетки средних размеров. Дендритное несколько асимметрично. Тело клетки расположено ортотопически. Дендриты обильно ветвятся. Клетки второго типа отличаются выраженной дендритной микроскульптурой. Дендритное древо имеет две более-менее обособленных зоны стратификации, одну - в склеральной, другую - в витреальной зоне внутреннего сетчатого слоя.

Тип 3. Клетки средних размеров со сравнительно симметричными дендритными полями. Тело клетки расположено ортотопически. Дендриты диффузно стратифицированы в склеральной и витреальной зонах внутреннего сетчатого слоя.

Тип 4. Мелкие клетки с асимметричными дендритными полями. Тело клетки расположено ортотопически или смещено во внутренний сетчатый слой. Дендриты редко диффузно разветвлены во всей толще внутреннего сетчатого слоя.

Тип 5. Мелкие клетки с асимметричными дендритными полями. Тело клетки расположено ортотопически. Дендриты обильно ветвятся. Дендритное древо моностратифицировано в склеральной зоне внутреннего сетчатого слоя.

Вероятными эквивалентами клеток, отнесённых нами к первому и второму типам, являются так называемые α -а и α -аб клетки, описанные у многих костистых рыб. Сопоставление данных по средним и мелким типам затруднено в связи с крайне малой изученностью морфологии ганглиозных клеток соответствующих размерных групп у других рыб. В работах других авторов описано несколько типов средних и мелких ГКС, среди которых можно выделить потенциальные эквиваленты клеток угая, отнесённых нами к третьему и пятому типу, чего нельзя сказать о клетках угая, отнесённых в нашей работе к четвёртому типу.

Влияние концентрации металлов в прибрежной акватории Амурского залива на состояние планктонного сообщества

В.В. Касьян

Институт биологии моря, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: valentina-k@yandex.ru

Большинство тяжелых металлов в природе доступно для растений и бактерий только в очень малых концентрациях. Железо, медь, цинк, марганец и некоторые другие элементы в микродозах необходимы для живых организмов, но они опасны в избыточных концентрациях. Свинец, кадмий, ртуть и их соединения ядовиты для большинства высших животных и многих растений в любых концентрациях. Например, мидии способны накапливать кадмий в достаточно больших количествах, а самые высокие коэффициенты накопления ртути и некоторых других элементов - в планктоне. Поэтому накопление токсичных металлов (ртути, свинца, кадмия) в органах и тканях промысловых беспозвоночных представляет серьезную опасность.

Настоящая работа представляет результаты воздействия сточных вод береговых источников на состояние планктонного сообщества. Это позволяет судить о состоянии здоровья популяций и отдельных организмов в целом, а также для составления краткосрочного прогноза состояния морских экосистем при оценке антропогенного воздействия. Материалом для работы послужили планктонные пробы, собранные в июне 2006 г. в районах контролируемых выпусков сточных вод “Первореченский”, “Второреченский”, в районе устьев рек Черная и Богатая и в р-не устья р. Раздольная. Первые три района представляют собой локальные импактные участки, где формируются поля загрязнения, которые затем рассеиваются прибрежными течениями вдоль п-ва Муравьева-Амурского, вплоть до устья р. Раздольная. Определение качественного состава зоопланктона и количественный подсчет его особей проводили в соответствии со стандартными гидробиологическими методиками. Для количественного анализа содержания тяжелых металлов в пробах зоопланктона был применен атомно-абсорбционный метод как наиболее широко используемый в аналитической практике. Результаты исследований показали, что наибольшие концентрации тяжелых металлов в зоопланктоне (Cu, Zn, Cd, Mn, Fe) были обнаружены в пробах, собранных в р-не устья р. Раздольная. Концентрация меди варьировала от 22 (р-н Второй Речки) до 488 мкг/г сыр. веса (устье р. Раздольная); цинка – от 324 (р-н Второй Речки) до 1244 мкг/г сыр. веса (устье р. Раздольная); кадмия - от 2 (р-н Второй Речки) до 249 мкг/г сыр. веса (устье р. Раздольная); марганца - от 43 (р-н Второй Речки) до 153 мкг/г сыр. веса (р-н устья р. Черная и Богатая); железа - от 3636 (р-н Второй Речки) до 13777 мкг/г сыр. веса (р-н устья р. Черная, Богатая и Раздольная). По мере убывания концентраций тяжелых металлов в зоопланктоне станции можно расположить в следующем порядке: р-н устья р. Раздольная > район устьев р. Черная и Богатая > район выпуска сточных вод “Первореченский” > район выпуска сточных вод “Второреченский”. Эти данные хорошо согласуются с результатами анализа количественных показателей и структуры зоопланктона: наибольшее число таксонов (11–15) отмечено в районе выпусков “Первореченский” и “Второреченский”, а в других районах – не превышало 9. Повсеместно преобладали веслоногие ракообразные (Copepoda), составляя 82–87% от всей численности зоопланктона, кроме р-на устья р. Черная и Богатая где их доля не превышала 36% (150 экз/м³). Такое же количество здесь составляли личинки Decapoda (30%) и немногим меньше Appendicularia (15%). Наибольшая плотность зоопланктона была отмечена в районе выпусков “Первореченский” и “Второреченский” (9 и 16.2 тыс. экз/м³), а минимальная – в приустьевом участке рек Черная, Богатая и Раздольная (400 и 790 экз/м³, соответственно).

Таким образом, анализ данных показывает, что средние концентрации таких элементов, как Cu, Zn, Cd, Mn, Fe достигают уровней возможного негативного воздействия на планктонные организмы, но ниже уровней достоверно наблюдаемых вероятных эффектов.

Влияние митилана, полисахарида из тканей мидий, на устойчивость личинок морских беспозвоночных к ультрафиолетовому облучению

Ю.О. Кипрюшина¹, Н.А. Одинцова², В.И. Молчанова³, П.А. Лукьянов³

¹Дальневосточный государственный университет, ²Институт биологии моря
Дальневосточного отделения РАН, ³Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО
РАН

Электронная почта: kiprul@yandex.ru

В последние годы морские биологические ресурсы все чаще используются в качестве источников новых биологически активных веществ и объектов для прикладных медико-биологических исследований. Из мантии промысловых видов мидий (*Crenomytilus grayanus*, *Mytilus edulis*, *Mytilus trossulus*) был выделен высокомолекулярный углевод-белковый комплекс (м.м. 2 МДа), названный митиланом. К настоящему времени накоплен обширный материал о физиологической активности митилана в экспериментах на позвоночных животных [1-2]. В данной работе мы исследовали эффект митилана на устойчивость личинок морских беспозвоночных (моллюсков *M. trossulus* и морских ежей *Strongulocentrotus nudus*) к ультрафиолетовому излучению (УФ). Известно, что ранние стадии развития гидробионтов более чувствительны к воздействию повреждающих факторов. Эти факторы могут приводить к различным аномалиям развития эмбрионов и личинок, которые легко можно идентифицировать и оценить количественно. Обнаружено, что данный полисахарид обладает мощным защитным эффектом при преинкубации личинок в течение 5-10 часов перед УФ облучением. Эффективность препарата высока при введении малых доз (2-200 мкг/мл). Установлено, что через 10-15 часов после УФ воздействия (при температуре 10-15°C) количество личинок, распавшихся на клетки, было значительно выше в контроле, при этом в присутствии митилана количество живых личинок в 2-4 раза выше. Кроме того, аномалии развития, ярко выраженные у контрольных облученных личинок, были минимальны в тех случаях, когда в морскую воду был добавлен митилан. С увеличением времени инкубации после воздействия УФ выживаемость личинок падает, но и через сутки после облучения число живых личинок в присутствии митилана в 1.5-2.5 раза выше, чем в морской воде. Эмбрионы морских ежей намного чувствительней к воздействию УФ облучения, чем эмбрионы мидий. Результаты работы подтверждают эффективность митилана и для беспозвоночных животных.

Литература

Запорожец Т.С., Беседнова Н.Н., Молчанова В.И., Звягинцева Т.Н. // Антибиотики и химиотерапия. 2001. Т. 46. № 7, С. 6-10.

Запорожец Т.С., Иванушко Л.А., Звягинцева Т.Н., Молчанова В.И., Беседнова Н.Н., Эпштейн Л.М. // Мед. Иммунология 2004. Т.6. №1-2. С. 89-96.

Экспрессия генов кальций-зависимых протеинкиназ в *rolB*-трансгенных культурах клеток винограда и женьшеня

К.В. Киселев, А.С. Дубровина, В.П. Булгаков

Биолого-почвенный институт Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: kkv5@mail.ru

Большинство ценных лекарственных и косметических препаратов создано на основе биологически активных веществ (БАВ) растительного происхождения. С развитием медицины возрастает потребление БАВ, поэтому появляется необходимость промышленного получения ценных веществ растительного происхождения, что приводит к острому недостатку сырьевых источников. Альтернативным источником ценных БАВ могут стать культуры клеток растений. Опыт получения клеточных культур показывает, что содержание в них ценных веществ чаще всего ниже, чем необходимо для эффективного производства. Поэтому увеличение содержания БАВ в клетках растений с помощью различных биотехнологических методов актуально на сегодняшний день. Как правило, использование классических биотехнологических приемов (добавление индукторов биосинтеза БАВ в среды) не приводит к значительному увеличению содержания БАВ, поэтому все чаще применяются методы генетической инженерии. В генной инженерии растений особое внимание привлекает ген *rolB* из *Agrobacterium rhizogenes*, т.к. он способен активировать биосинтезы вторичных метаболитов. Например, в культуре клеток винограда амурского экспрессия гена *rolB* увеличивала содержание резвератрола более чем в 100 раз, по сравнению с контрольными клетками (Kiselev et al., 2007). Известны другие примеры положительного влияния гена *rolB* на синтез БАВ растений (Bulgakov et al., 2002). Поэтому целью нашей работы является раскрытие механизма действия гена *rolB*, для разработки методов целенаправленного увеличения биосинтеза определенных БАВ.

Ранее показано, что работа гена *rolB* связана с Ca^{2+} сигнальной системой (Bulgakov et al., 2003). Главными сенсорами Ca^{2+} в клетке растений являются Ca^{2+} -зависимые протеинкиназы, *CDPK* (Cheng et al., 2002). О *CDPK* известно, что это мультигенное семейство состоящее из нескольких десятков генов, где принято выделять по разности в аминокислотном составе 4 семейства и несколько подсемейств генов. Предполагают, что каждое семейство и подсемейство *CDPK* выполняет определенную функцию (Cheng et al., 2002). Существуют фрагментарные данные о свойствах и функциях генов *CDPK*, но уже по ним можно сказать, что это одни из важнейших элементов в клетках растений, регулирующие рост, деление, защитные реакции и др. Биосинтез большинства БАВ растений относится к защитным реакциям, поэтому мы решили сравнить экспрессию генов *CDPK* в контрольных и *rolB*-трансгенных культурах винограда и женьшеня. На сегодняшний день не известны нуклеотидные последовательности генов *CDPK* женьшеня *Panax ginseng* С.А. Meyer и винограда *Vitis amurensis* Rupr, поэтому анализировали экспрессию с помощью дегенеративных праймеров.

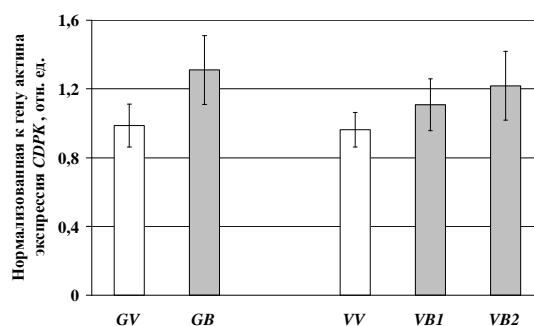


Рис.1. Экспрессия генов *CDPK* женьшеня и винограда. GV - контрольная культура женьшеня, GB - *rolB*-трансгенная культура женьшеня, VV - контрольная культура винограда, VB1 - слабо экспрессирующая ген *rolB* культура винограда, VB2 - сильно экспрессирующая ген *rolB* культура винограда, особенности нормализации см. Kiselev et al., 2006.

Общая экспрессия генов *CDPK* в *rolB*-трансгенных культурах винограда и женьшеня увеличивалась в 1,1-1,3 раза, но данное увеличение было в пределах ошибки эксперимента (рис.1), поэтому далее рассматривали качественный состав экспрессируемых генов *CDPK* с помощью секвенирования клонированных ампликонов, полученных с дегенеративных праймеров. Нам удалось описать 30-35 генов *CDPK* у женьшеня и винограда. Если в секвенированном участке последовательности отличались по ДНК и формировали один белковый продукт, то они объединялись в одно подсемейство. Поводом для выделения нового подсемейства было отличие на 1 аминокислоту в секвенированном участке. Сейчас нами у женьшеня описано 15 подсемейств, у винограда 12.

Оказалось, что все *rolB*-трансгенные культуры клеток отличаются от контрольных тем, что в их кДНК появляются новые подсемейства *CDPK*. Так в слабоэкспрессирующей *rolB* культуре винограда появлялись 5, а в сильноэкспрессирующей *rolB* 6 новых подсемейств *CDPK*. Экспрессия *rolB* в культуре клеток женьшеня приводила к появлению 5 новых подсемейств *CDPK* (табл.1). Для подтверждения результатов экспрессии *CDPK* мы решили проанализировать экспрессию каждого гена *CDPK* с помощью ПЦР в реальном времени на iQ5 BIORAD. Первые результаты, полученные с помощью ПЦР в реальном времени, подтверждают полученные ранее данные, поэтому их можно рассматривать с большей уверенностью.

Женьшень	Семейства <i>CDPK</i>	Ген банк	Ген <i>rolB</i>
<i>PgCDPK1a</i>	II	DQ421785	↓
<i>PgCDPK1b</i>	II	EF546429	↑
<i>PgCDPK1c</i>	II	EF621917	↑
<i>PgCDPK1d</i>	II	н.д.	*
<i>PgCDPK1x</i>	II	н.д.	↑
<i>PgCDPK1a-s</i>	II	н.д.	+
<i>PgCDPK2a</i>	III	DQ422856	↑
<i>PgCDPK2b</i>	III	EF541125	↑
<i>PgCDPK2c</i>	III	EF600555	+
<i>PgCDPK2d</i>	III	н.д.	+
<i>PgCDPK2d-s</i>	III	н.д.	+
<i>PgCDPK3a</i>	I	DQ422857	*
<i>PgCDPK3b</i>	I	DQ981494	*
<i>PgCDPK3-L</i>	I	н.д.	+
<i>PgCDPK4a</i>	II	EU043518	↑

Виноград	Семейства <i>CDPK</i>	Ген банк	Ген <i>rolB</i>	
			Слабо экспрессируется	Сильно экспрессируется
<i>VaCPK1</i>	II	н.д.	*	↑
<i>VaCPK2</i>	II	н.д.	*	+
<i>VaCPK3</i>	II	н.д.	+	*
<i>VaCPK4</i>	II	н.д.	+	+
<i>VaCPK5</i>	II	н.д.	+	*
<i>VaCPK6</i>	II	н.д.	↑	↑
<i>VaCPK7</i>	II	н.д.	+	+
<i>VaCPK8</i>	III	н.д.	↓	↑
<i>VaCPK9</i>	I	н.д.	*	↓
<i>VaCPK10</i>	I	н.д.	+	+
<i>VaCPK11</i>	I	н.д.	*	+
<i>VaCPK12</i>	I	н.д.	*	+

Таблица 1. Изменение экспрессии подсемейств генов *CDPK* винограда и женьшеня под действием гена *rolB*; ↑ - экспрессия активизируется; ↓ - ингибируется; * - не меняется; + - появление нового подсемейства, не было в контрольных клетках; н.д. - не депонировано в ген банк; деление на семейства по Cheng et al., 2002.

Активация или ингибирование экспрессии генов в большинстве случаев является результатом работы факторов транскрипции, т.е. существуют факторы транскрипции специфические для определенных семейств *CDPK*. Можно предположить, что ген *rolB* влияет на факторы транскрипции, которые активируют экспрессию новых генов *CDPK*, но в винограде и женьшене активируются разные семейства *CDPK* (табл.1), значит в данных растительных объектах ген *rolB* действует через разные факторы транскрипции. Возможно в нашем случае затронут какой то общий механизм активации экспрессии генов *CDPK*, например, как было предложено ранее - экспрессия *CDPK* увеличивается через активацию кальциевых каналов (Bulgakov et al., 2003).

Cheng S.H., Willmann M.R., Chen H.C., Sheen J. // Plant Physiol. 2002. V. 129. P. 469–485.

Bulgakov V.P., Tchernoded G.K., Mischenko N.P., Khodakovskay M.V., Glazunov V.P., Zvereva E.V., Fedoreyev S.A., Zhuravlev Y.N. // J. Biotechnol. 2002. V. 97. P. 213-221.

Bulgakov V.P., Tchernoded G.K., Mischenko N.P., Shkryl Y.N., Glazunov V.P., Fedoreyev S.A., Zhuravlev Y.N. // Planta. 2003. V. 217 P. 349-355.

Kiselev K.V., Kusaykin M.I., Dubrovina A.S., Bezverbny D.A., Zvyagintseva T.N., Bulgakov V.P. // Phytochem. 2006. V. 67. P. 2225-2231.

Kiselev K.V., Dubrovina A.S., Veselova M.V., Bulgakov V.P., Fedoreyev S.A., Zhuravlev Y.N. // J. Biotechnol. 2007. V. 128. P. 681-692.

Генетические различия лабораторных мышей по сперматогенным показателям.

М.А. Клещев, Е.С. Матвеева
Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск
Электронная почта: max82c11@bionet.nsc.ru

Задачей нашего исследования было оценить генетическую изменчивость у 7 инбредных линий лабораторных мышей по показателям сперматогенеза, что позволяет выбрать контрастные по этим признакам линии для изучения наследования и регуляции сперматогенеза.

Самцов инбредных линий мышей BALB/cLac, PT, CBA/Lac, DD/He, A/He, SWR, NZB (всего 277 особей) забивали в возрасте 90 – 95 дней. Сперматозоиды вымывали из каудального эпидидимиса в среду F-12(HAM), с 3-% бычьей сывороткой. Оценивались число сперматозоидов в каудальном эпидидимисе с помощью камеры Горяева, доля (в %) подвижных сперматозоидов категории А (со скоростью более 25 мкм/сек) и В (со скоростью более 2 мкм/сек.) и их средняя скорость (мкм/сек), с использованием анализатора основных показателей фертильности спермы.SFA-500 НПФ «Биола» (г. Москва).

Однофакторный дисперсионный анализ показал достоверное влияние генотипа на все изучаемые показатели. Наибольшим количеством сперматозоидов в каудальном эпидидимисе обладают линии NZB, SWR, DD/He, в 2 раза меньше сперматозоидов было у линии CBA/Lac. Другие линии занимают по этому показателю промежуточное положение. Линии Balb/cLac, SWR, NZB, A/He обладали наибольшей долей подвижных сперматозоидов категории В, которая была в 3 раза выше, чем у линии DD/He, обладающей минимальным процентом подвижных сперматозоидов. Схожая картина наблюдается и по доле подвижных сперматозоидов категории А, но линия A/He занимает промежуточное положение между линиями BALB/cLac, SWR, NZB и линией DD/He. Высокой скоростью движения обладали сперматозоиды у мышей линий NZB и BALB/cLac, минимальная скорость сперматозоидов наблюдалась у линий A/He и DD/He.

Выявленные значительные генетические различия между изученными инбредными линиями мышей по показателям сперматогенеза, позволяют рекомендовать эти линии, как контрастные для изучения наследования и регуляции сперматогенеза.

Хемосигналы и репродуктивный успех самцов мышей при активации неспецифического иммунного ответа

Е.Ю. Кондратюк

Институт систематики и экологии животных СО РАН

Электронная почта: tsu@eco.nsc.ru

Бактериальный эндотоксин, липополисахарид (ЛПС - компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий) является представителем патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (РАМР), который через стимуляцию клеточных рецепторов (TLR) осуществляет активацию нейроэндокринной системы. Это приводит к изменению поведения (Avitsur, 1998; Dantzer, 2001) и хемосигналов животных (Kondratuk, 2004).

В нашей работе активацию неспецифической линии иммунной защиты проводили с помощью внутривентрального введения бактериального ЛПС (L-4005, *E.coli*, серотип 055:B5, Sigma) в дозе 50 мкг/кг половозрелым самцам мышей лабораторной линии ICR. Данная доза достаточна для проявления синдрома болезненного поведения (Bilbo, 1999), заключающегося в увеличении температуры тела, потере аппетита, уменьшении двигательной активности и снижении социального интереса, в частности, по отношению к ювенильному интродеру (Hart, 1990; Kent et al., 1992; Fishkin, 1997).

В первом эксперименте через три часа после инъекции ЛПС самцам, их индекс агрессивности был достоверно ниже, по сравнению с особями-оппонентами, инъецированными физ.раствором ($Z=2,5$; $p<0,01$, *Mann-Whitney U-test*). На пятые сутки агрессивное поведение между группами не различалось.

В другом эксперименте от инъецированных самцов на первые и пятые сутки собирали загрязненную подстилку и мочу. Пробы предоставляли самкам в разные периоды эстрального цикла в тесте ольфакторного предпочтения, где все они уделяли больше времени образцам, собранным на пятые сутки от антигенстимулированных самцов. При ссаживании животных в тесте полового поведения обнаружено отсутствие различий в количестве покрытых самок самцами обеих групп. Однако, вес эмбрионов, полученных от антигенстимулированных самцов, оказался достоверно ниже потомства контрольной группы ($t=5.1$; $p<0.01$; *Student t-test*).

Таким образом, активация неспецифической линии иммунной защиты ведет к изменению ольфакторных предпочтений, которое может приводить к ошибочному выбору полового партнера.

Получение конструкции фрагмента гена, кодирующего зрелый актинопорин из актинии *Radianthus macrodactylus*, с плазмидным вектором

Е.В. Лейченко, Е.С. Соболева

Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: laserta@mail.ru

Поиск высокоспецифичных биологически активных соединений (потенциальных компонентов для создания фармакологических препаратов или биодобавок), исследование механизма их действия и изучение структурно-функциональных отношений являются важнейшими задачами биохимии и биотехнологии. Особый интерес представляют цитолитические токсины белковой природы – целый класс биологически активных соединений, продуцируемых ядовитым аппаратом некоторых насекомых, рептилий, морских беспозвоночных (например, актинии), а также микроорганизмами. Цитолизины актиний (актинопорины) – это уникальные по своей структуре и механизму действия природные полипептиды. В настоящее время возрос интерес к веществам, обладающим мембранотропным и цитостатическим действием, лежащим в основе противоопухолевого, кардиостимулирующего, дерматонекротического, антимикробного, антипаразитарного и других фармакологических свойств этих соединений, и в последнее десятилетие в изучении актинопоринов наблюдается значительный прогресс. Благодаря своему мембранотропному действию, актинопорины выступают в качестве цитоплазматических маркеров, являются незаменимым инструментом исследования структурной организации и механизмов функционирования биологических мембран. Бурное развитие как физических, биохимических, молекулярно-биологических методов исследования, так и методов компьютерного моделирования, позволяет в настоящее время выделять фрагменты ДНК, кодирующие белок, клонировать их и получать конструкции для экспрессии рекомбинантных белков с заданными свойствами.

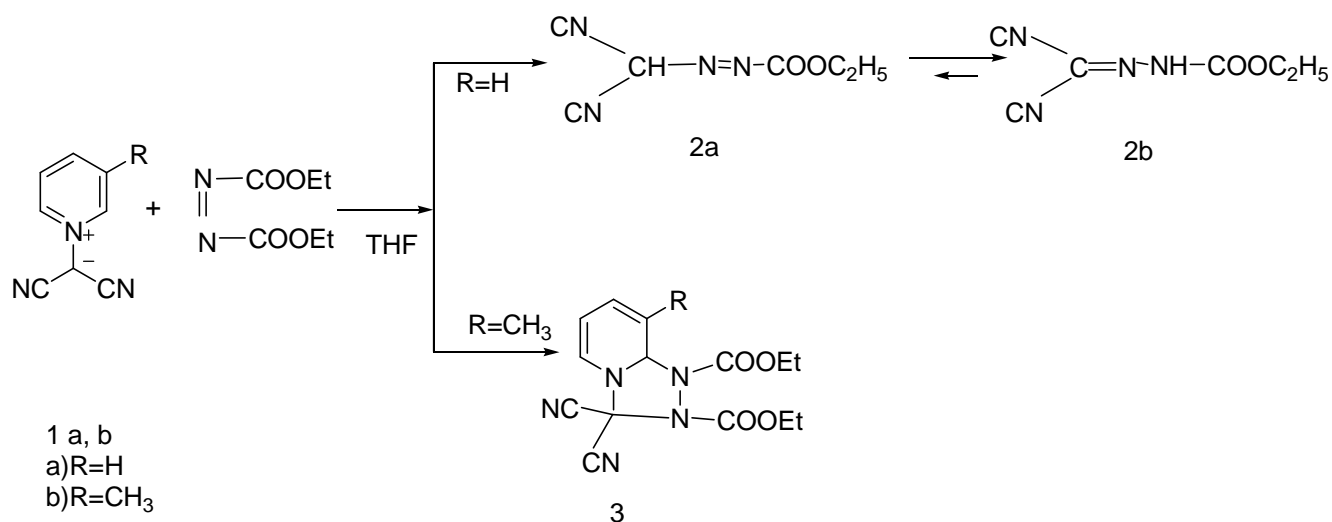
Целью работы являлось получение конструкции фрагмента гена, кодирующего актинопорин из актинии *Radianthus macrodactylus*, с плазмидным вектором.

Фрагмент кДНК размером 550 п.о., кодирующий зрелый актинопорин из актинии *R. macrodactylus*, был клонирован в плазмиду рЕТ-41a(+). Полученными плазмидами, содержащими фрагмент гена актинопорина, трансформировали компетентные клетки *E. coli* DH5 α с помощью электропорации. Для осуществления скрининга рекомбинантных клонов на наличие корректной вставки клонированного фрагмента было проведено секвенирование выделенных плазмид на капиллярном ДНК секвенаторе методом терминирующей реакции. В результате реакции были получены нуклеотидные последовательности, соответствующие участкам плазмиды со вставкой. При анализе полученных последовательностей корректную вставку (открытая рамка считывания, сайт для энтерокиназы, наличие последовательности, соответствующей гену актинопорина, и стоп-кодона) с сохранением нуклеотидных фрагментов плазмиды, необходимых для проведения дальнейшей экспрессии (lac-operator, rbs-сайт, ATG (метионин), GST-Tag-последовательность и т.д.) имели плазмиды из пяти колоний. Полученные плазмиды будут использованы для получения рекомбинантных форм актинопоринов.

Реакция 1,3 диполярного циклоприсоединения с участием пиридиниевых илидов

А.В. Липеева, В.А. Каминский
 Дальневосточный Государственный Университет
 Электронная почта: mond_05@list.ru

Реакции 1,3 диполярного циклоприсоединения достаточно подробно описаны в литературе и широко используются для получения карбо- и гетероциклических соединений. Мы провели реакцию 1,3 диполярного циклоприсоединения с участием пиридиниевых илидов (1 а,б) и диэтилового эфира азодикарбоновой кислоты, ранее не описанную в литературе.



В результате были получены продукты 2 и 3 различной структуры. Продукт 2 существует в двух таутомерных формах, причем равновесие сильно смещено в сторону более устойчивой формы 2б.

Структура продуктов подтверждена данными ИК, ЯМР и масс-спектроскопии.

**Применение телеуправляемых необитаемых подводных аппаратов
для изучения донных сообществ и экологического мониторинга морских экосистем**

Д.Г. Ляхов¹, В.Г. Тарасов²,

¹ОАО «ТЕТИС КС»

²Институт биологии моря имени А.В. Жирмунского, Дальневосточное отделение РАН
Электронная почта: rovs@tetis.ru; vtarasov@dvo.ru

Телеуправляемые подводные аппараты (ТПА) представляют собой класс специализированных и высокотехнологичных систем для проведения подводных исследовательских работ. В результате автоматизированного сбора и анализа визуальных, гидрохимических, гидрооптических данных и отбора проб может быть получена недоступная ранее информация о характеристиках среды обитания, видовом составе, численности и биомассе донных сообществ, их изменчивости под воздействием природных и антропогенных факторов

Технические достижения последних лет позволили создать различные типы необитаемых ТПА от компактных обследовательских систем, управляемых по кабелю с поверхности, до автономных подводных роботов с радиусом действия в сотни километров, оснащенных сложнейшими системами технического зрения, средствами анализа характеристик морской среды, адаптивными алгоритмами управления и прецизионными навигационными системами.

Для выполнения подводных исследований прикладного характера, таких как: определение плотности поселения гидробионтов и запасов промысловых объектов, ведение экологического мониторинга, контроль промысловых орудий лова, обследование гидротехнических сооружений и установок в хозяйствах аквакультуры и т.п., наиболее эффективны исследовательские ТПА малого класса.

Одним из основных назначений аппаратов такого класса является обследование дна на достаточно больших площадях. Базовые модели аппаратов малого класса обладают высокой маневренностью и оснащены многофункциональными телевизионными камерами, светильниками регулируемой мощности, инструментальными комплексами лазерного определения размеров подводных объектов и гидроакустическими навигационными системами с ультракороткой базой.

Кроме того, на ТПА малого класса дополнительно могут быть размешены миниатюрные датчики для оценки характеристик водной среды, батометры, пробоотборники грунта и манипуляторы.

Благодаря небольшим размерам и массе всех компонентов ТПА, эта система может быть в кратчайшие сроки доставлена в район выполнения экспедиционных работ при помощи обычного легкового автомобиля, поездом или рейсовым самолетом. Компактное размещение элементов надводной части оборудования, и малое энергопотребление позволяет использовать аппарат с небольших судов, катеров и резиновых лодок, а зимой осуществлять спуски со льда.

При помощи ТПА можно осуществлять вспомогательные функции при водолазных работах; маневренность подводного аппарата позволяют ему проникать и обследовать области, труднодоступные для водолазов, повышая безопасность работы людей.

Одним из таких аппаратов, выпускаемых серийно (более 100 шт. в год), является ТПА «LBV» компании «Seabotix» (США). Модельный ряд систем LBV включает в себя четыре базовых модификации с рабочей глубиной от 150 до 600 м. В настоящее время на производственной базе ООО «Тетис Про» развернута сборка основных конфигураций ТПА «LBV». Российский вариант получил наименование «Обзор».

Следующим классом исследовательских аппаратов является ТПА «Фалкон», разработанный компанией Saab Seaeye (Англия). «Фалкон» имеет гораздо большие возможности по несению различных океанографических приборов и оснащен двумя манипуляторами для выполнения сложных подводных работ на глубине до 1000м.

Комплексообразование тритерпеновых гликозидов голотурий с холестерином как основа липид-гликозидных носителей белковых антигенов

А.Н. Мазейка², А.М. Попов¹, С.А. Авилов¹, В.И. Калинин¹, Н.М. Санина², Э.Я. Костецкий²,
О.Ю. Портнягина¹, О.Д. Новикова¹

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

²Отделение биохимии и биотехнологии, Дальневосточный государственный университет

Электронная почта: mazeyka@inbox.ru

Тритерпеновые гликозиды голотурий - типичные мембранотропные соединения, проявляющие гемолитическую активность. Гемолитическая активность данных веществ, как и многих сапонинов, объясняется способностью образовывать липид-гликозидные 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 надмолекулярные липид-сапониновые комплексы такого рода 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.

Нами была исследована способность некоторых тритерпеновых гликозидов голотурий к формированию надмолекулярных липид-сапониновых комплексов. С помощью трансмиссионной электронной микроскопии установлено, что кукумариозид А₂-2, фрондозид А, и кукумариозид G₁ образуют в водной среде надмолекулярные холестерин-сапониновые комплексы, представляющие собой наночастицы. Комплексы, формируемые кукумариозидом А₂-2 и фрондозидом А имеют тубулярный тип строения и принципиально отличаются по строению от частиц, формируемых кукумариозидом G₁. Морфология частиц, формируемых кукумариозидом А₂-2 и кукумариозидом G₁ менялась в зависимости от доли холестерина в липид-сапониновой системе, фрондозид А такой зависимости не обнаружил. При одинаковой молярной доли холестерина в липид-сапониновой системе кукумариозид А₂-2 формировал частицы более упорядоченного строения, чем фрондозид А. Сравнительный анализ морфологии описанных надмолекулярных комплексов и особенностей структуры гликозидов показал, что суперструктура формируемых ими частиц зависит от степени разветвленности углеводной части молекулы гликозида, а формирование комплекса с холестерином определяется особенностями строения агликона. Показано, что комплекс кукумариозида А₂-2 с холестерином в присутствии фосфо- и гликолипидов способен включать гемагглютинин вируса гриппа и термоденатурированный мономер порина из *Yersinia pseudotuberculosis*. Таким образом, доказана возможность формирования нового поколения носителей антигенов на основе описанных комплексов.

Синтез корусканонов А и В – природных циклопентановых β,β' -трикетонов

Е.А. Мартыяс,¹ О.П. Шестак², В.Л. Новиков²

¹Дальневосточный государственный университет

²Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: martyiyas@inbox.ru

Циклопентановые β,β' -трикетоны составляют уникальную по своему строению и малочисленности группу вторичных метаболитов высших растений. Проводившиеся в последнее десятилетие исследования их биологических свойств позволили обнаружить у них широкий спектр биологической активности: цитотоксической, противоопухолевой, противомикробной и др.

Для сравнения химических и биологических свойств природных циклопентановых β,β' -трикетонов и их простейших синтетических аналогов, широкий ряд которых получен в лаборатории органического синтеза ТИБОХ ДВО РАН, появилась необходимость синтеза природных соединений этого класса.

Для получения корусканонов В и А был выбран путь синтеза, предложенный группой американских ученых [1]. Метод основан на перегруппировке соответствующего иллиденбутенолида в корусканон В и превращении последнего в его метиловый эфир - корусканон А. При осуществлении выбранного нами пути синтеза мы столкнулись с рядом трудностей, не описанных в методике, что вынудило нас подбирать иные условия протекания реакции с целью повышения чистоты и увеличения выхода необходимого продукта.

Оказалось, что наибольшего выхода корусканона В (40%) можно достичь лишь перегруппировкой (5E)-3-метил-5-[2'-оксо-4'-фенилбут-3'-енилиден]фуран-2(5H)-она под действием свежеприготовленного 30% раствора метилата натрия в метаноле при кипячении в течение 1 часа. Наряду с целевым соединением образуется новый циклопентановый трикетон - 2-[1'-гидрокси-3'-фенилаллилиден]-4-метил-4-метоксициклопентан-1,3-дион - продукт присоединения MeOH по двойной связи циклопентанового цикла корусканона В. Соотношение корусканона В и нового 2-ацилциклопентандиона изменяется в зависимости от условий реакции.

С целью получения аналогов корусканона В по этой же методике вместо цитраконового ангидрида были опробованы малеиновый и дихлормалеиновый ангидриды. К сожалению, конденсация их с 4-фенил-1-(трифенилфосфорилиден)-(3E)-бутен-2-оном в изученных условиях, даже в токе сухого аргона, давали лишь смолообразные продукты, выделить из которых соответствующие 4-илиденбутенолиды не удалось.

Синтез корусканона А был опробован двумя способами на простейшем синтетическом аналоге корусканона В реакцией с diazometаном и взаимодействием с диметилсульфатом. Взаимодействие 2-ацетил-4-метилциклопент-4-ен-1,3-диона с diazometаном протекало в двух направлениях: по O-атому енольной группировки ацетила с образованием метиловых енольных эфиров и по C-атому карбонильной группы цикла с последующим его расширением и ароматизацией, что дало производные 2-ацилгидрохинона, а с диметилсульфатом - только с образованием смеси енольных эфиров (3:2) с выходом 20%.

Корусканон А решили получать реакцией корусканона В с диметилсульфатом [2], в результате реакции выход продукта составил 77%.

Работа поддержана грантами ДВО РАН: № 06-III-A-05-120.

1. Clemo N. G., Gedge D. R., Pattenden G. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1. 1981. No. 5. P. 1448-1453.
2. Li X.-C., Ferreira D., Jacob M. R., Zhang Q., Khan S. I., ElSohly H. N., Nagle D. G., Smillie T. J., Khan I. A., Walker L. A., Clarck A. M. // J. Am. Chem. Soc. 2004. V. 126. P. 6872-6873.

Обнаружение генетически модифицированных источников в соевых продуктах питания

Е.С. Маскальцова, Л.Е. Иваченко, Е.М. Стасюк, Т.А. Салун

Благовещенский государственный педагогический университет

Электронная почта: *ivachenko-rog@yandex.ru*

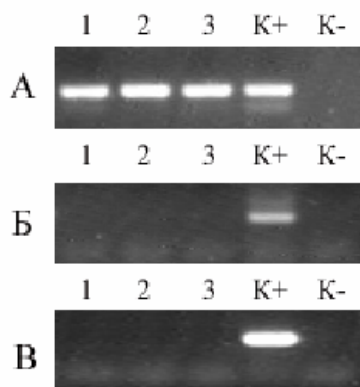
За короткий срок в мире созданы трансгенные сорта и гибриды сои, кукурузы, хлопчатника, томатов, риса, рапса, картофеля и других культур, но самые большие площади заняты трансгенной соей. Хотя реальную опасность от употребления в пищу продуктов из трансгенных растений пока нельзя до конца оценить, но и доказательства их абсолютной безопасности для здоровья человека и, особенно, его потомства тоже все еще отсутствуют.

Поэтому целью нашего исследования было обнаружение генетически модифицированной ДНК в пищевых продуктах из сои (мясо соевое китайское и амурское, соевый хлеб, конфеты фабрики «Зея», колбаса Благовещенского мясокомбината и детское питание).

Генетически модифицированную ДНК определяли с помощью наборов реагентов «35S-ПЦР ядро» и «NOS-ПЦР ядро». Контроль качества препаратов соевой ДНК, выделяемой из пищевых продуктов, производили с помощью набора «ЛЕС-ПЦР ядро», позволяющего идентифицировать фрагмент гена соевого лектина во всех препаратах, содержащих геномную ДНК сои удовлетворительного качества в оптимальной для ПЦР концентрации.

На рисунке представлены результаты амплификации целевых фрагментов геномной ДНК сои, выделенной из соевого мяса. Присутствие специфического фрагмента гена соевого лектина во всех препаратах ДНК (см. рисунок, поз. А) свидетельствует о том, что, во-первых, во всех проанализированных пищевых продуктах действительно присутствует геномная ДНК сои, которая сохранилась после промышленной переработки соевого сырья, а во-вторых, полученные препараты ДНК пригодны для проведения ПЦР, т.е. они свободны от ингибиторов реакции и ДНК в них содержится в достаточном количестве (не менее 10 копий на микролитр).

В тоже время, ни один из проанализированных препаратов ДНК не дал положительной реакции. Это означает, прежде всего, что в этих препаратах отсутствуют специфические мишени, доступные для амплификации целевых фрагментов 35S-промотора и NOS-терминатора. Однако, на основании данных о предварительных испытаниях препаратов ДНК можно сделать более широкий вывод об отсутствии генетически модифицированной ДНК в исследованных пищевых продуктах, по крайней мере, в количестве достаточных для ПЦР (не более 0,1% от общего количества ДНК).



Электрофореграммы амплифицированных фрагментов ДНК, выделенной из пищевых продуктов: 1 - мясо соевое китайское, 2 - мясо соевое амурское; 3 - хлеб соевый амурский; K+ - положительный контроль; K- - отрицательный контроль (вода). А - амплифицированный фрагмент соевого лектина; Б - амплифицированный фрагмент 35S-промотора; В - амплифицированный фрагмент NOS-терминатора.

Изменение физико-химических свойств липидов *Pseudomonas putida* IB28 под влиянием ионов тяжелых металлов при различных температурах культивирования.

О.Б. Попова¹, Н.М. Санина¹, Г.Н. Лихацкая², И.П. Безвербная¹

¹Дальневосточный государственный университет

²Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: olga.popova@bio.dvgu.ru

Известно, что металлорезистентные бактерии являются эффективным и экономичным биоматериалом для извлечения тяжелых металлов из загрязненных вод. Для их широкого использования в биоремедиации необходимо четкое понимание механизмов сорбции ионов бактериальными клетками, а также молекулярных механизмов адаптации к высоким концентрациям токсичных металлов.

Поглощение микроорганизмами тяжелых металлов связывают с взаимодействием ионов с функциональными группами белков, липидов и углеводов мембран бактерий [1]. При повышенных концентрациях ионов тяжелых металлов у металлорезистентных бактерий происходит изменение проницаемости цитоплазматической мембраны [2], хотя причина остается неясной. Известно также, что резистентность к тяжелым металлам зависит от температуры окружающей среды [3].

Настоящая работа посвящена исследованию эффектов ионов меди и кадмия и их комбинированного действия с температурой культивирования на термотропное поведение и состав липидов морского штамма психротрофной грамотрицательной бактерии *Pseudomonas putida* IB28, проявляющего множественную высокую резистентность к различным тяжелым металлам.

Показано, что, несмотря на изменение доли кислых липидов, соотношения ненасыщенные/насыщенные жирные кислоты и уровня циклопропановой кислоты, температурный интервал калориметрических фазовых переходов общих липидов бактерий мало изменялся под влиянием этих факторов, что может быть причиной ингибирующего действия низкой температуры. Угнетающее влияние тяжелых металлов на рост бактерий связано с фазовым разделением липидов и резким увеличением ионной проницаемости липидного бислоя. Предполагается, что увеличение доли кислых фосфолипидов под действием Cu^{2+} и Cd^{2+} , особенно при 24 °С, свидетельствует об их функции связывания тяжелых металлов. Это с одной стороны обеспечивает толерантность к Cu^{2+} и Cd^{2+} , а с другой, способствует ингибированию роста бактерий в их присутствии.

Работа выполнена при финансовой поддержке USCRDF и МОНРФ (гранты RUXO-003-VL-06, RUXO-003-VL-06/ BP2M03 и РНП.2.1.1.2641).

1. Greene B., Hosea M., McPherson R., Henzl M., Alexander M.D., Darnall D.W.// Environ. Sci. Technol. 1986. Vol. 20. P. 627–632.
2. Theuvenet A.P.R., Kesseles B.G.F., Blankensteijn W.M., Borst-Pawels G.W.H.F.// FEMS Microbiol. Letters. 1987. Vol. 43. P. 147-153.
3. Cervantes C., Gutierrez-Corona F.// FEMS Microbiol.Rev. 1994. Vol. 14. P.23-30.

Использование минеральных источников полуострова Камчатка в бальнеологической практике

С.В. Рогатых

Научно-исследовательский геотехнологический центр, Дальневосточное отделение РАН
Электронная почта: nigtc@kscnet.ru

В результате теоретических и практических исследований дано и проанализировано современное бальнеологическое типирование холодных минеральных источников и проявлений термальных вод Камчатского полуострова. Классификация проводилась по их химико-физическим и гидрохимическим свойствам, таким как температура, минерализация, рН, наличие или повышенное содержание биологически активных компонентов – ионов микро- и макроэлементов K^+ , Ca^{2+} и др.

Установлены показатели, характерные для большинства вод минеральных источников Камчатки. Типирование камчатских вод показало, например, для Малкинской воды, группу – хлоридно-гидрокарбонатную кальциево-натриевую, борную, железистую, кремнистую. Анализ минерализации, концентрации основных ионов, наличие биологически активных компонентов (CO_2 , H_2SiO_3 , H_3BO_3 , Fe) устанавливает углекислый тип питьевой лечебной воды и лечебное назначение этой воды по более чем по 15 лечебных показаний. Типирование Налычевских вод устанавливает их групповую принадлежность к хлоридно-кальциево-натриевым, маломинерализованным, кремнистым из подгруппы мышьяковистых, имеющих показания для наружного лечебного применения по 8 показаниям.

Преобладающей группой на Камчатке являются хлоридно-сульфатные и хлоридно-гидрокарбонатно-кремнистые типы источников с повышенной температурой (до $60^\circ C$) и минерализацией (до 2 г/л). Содержание кремниевой кислоты в некоторых источниках достигает высоких показателей (в Больше-Банных источниках – 0,23 г/л, в Паужетских – 0,2 г/л). Такие источники являются наиболее перспективными в бальнеологическом отношении, и могут применяться в широком лечебном диапазоне (Лодис Ф.А., Семенов В.И. Камчатка – край лечебный. Петропавловск-Камчатский, Дальневосточное книжное издательство, 1993. 152 с.).

В основном Камчатка богата слабоминерализованными водами с повышенным содержанием кремнистой кислоты, которая играет роль главного лечебного фактора и, сочетаясь с газами – азотом, углекислым, сероводородом и радоном, порождает большое число типов минеральных вод. Так, из более крупных источников к кремнистым азотным относятся Нижне-Паратунские, Паужетские, Начикинские. К кремнистым мышьяковистым – Верхнещепинские, Налычевские. К кремнистым сероводородным – Озерновские, Дранкинские. Даже если исключить малоэффективные в лечебном отношении источники со слабой минерализацией (менее 2 г/л), то можно оценить лечебные гидротермальные подземные ресурсы Камчатского полуострова высоко – не менее пятидесяти преимущественно горячих с высоким дебитом источников.

Температурный режим термальных источников позволяет организовывать бассейны на открытом воздухе без дополнительного подогрева воды, что снижает финансовые затраты. Химический состав вод нескольких выходов одного месторождения гидротерм может существенно отличаться друг от друга. Это позволяет проводить различные виды лечения в пределах одной курортной зоны.

Для эффективного использования вод минеральных источников важна оптимизация способов эксплуатации месторождений. Научно-обоснованная система добычи на некоторых из них отсутствует, а ресурс используется стихийным образом.

Исследование элементного состава объектов окружающей среды методом рентгенофлуоресцентного анализа с полным отражением (TXRF)

С.А. Сарин¹, Н.В. Полякова¹

¹Институт химии ДВО РАН, Владивосток-22, Столетия 159,
Электронная почта: zveroboy82@mail.ru

В Институте химии ДВО РАН с 2003 года проводится анализ проб, в том числе воды, воздуха, почв, растений Дальневосточного региона методом рентгено-флуоресцентного анализа с полным отражением TXRF. Остро сфокусированное монохроматическое рентгеновское излучение падает под малым углом на кварцевую подложку, на которую нанесено малое количество образца в виде тонкой пленки. При этом возникает эффект полного внешнего отражения рассеянного излучения, вследствие чего существенно снижается фон от подложки, увеличивается выход флуоресценции характеристического излучения и соответственно улучшаются пределы обнаружения.

Преимуществами данного метода является:

- диапазон определяемых элементов от Al до U;
- предел обнаружения до 10-12г;
- малое количество вещества, необходимое для анализа (~10мкл);
- возможность определения элементов, как в растворах, так и в твердых образцах;
- количественное определение концентрации элементов за счет внесения в пробу внутреннего стандарта.

С помощью прибора TXRF 8030C (Germany) нами были исследованы образцы растений и почв из разных регионов Дальнего Востока на предмет загрязнения тяжелыми металлами (Cr, Mn, Ni, Cu, As, Pb, Bi). Кроме того, мы исследовали возможности определения элементов (S, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Hg, Pb, Th, U) в атмосферном воздухе, в воде рек Дальневосточного бассейна, в водорослях, морских организмах, а так же в крови и в волосах жителей г. Владивостока. Разнообразие объектов анализа обусловлено не только разными интересами исследователей, но и широкими возможностями самого метода анализа, что позволяет проводить комплексный мониторинг состояния окружающей среды и его влияния на здоровье населения.

Селеноцианирование замещенных алкенов, оснований Шиффа и арилгидразонов карбонильных соединений при помощи триселендицианида

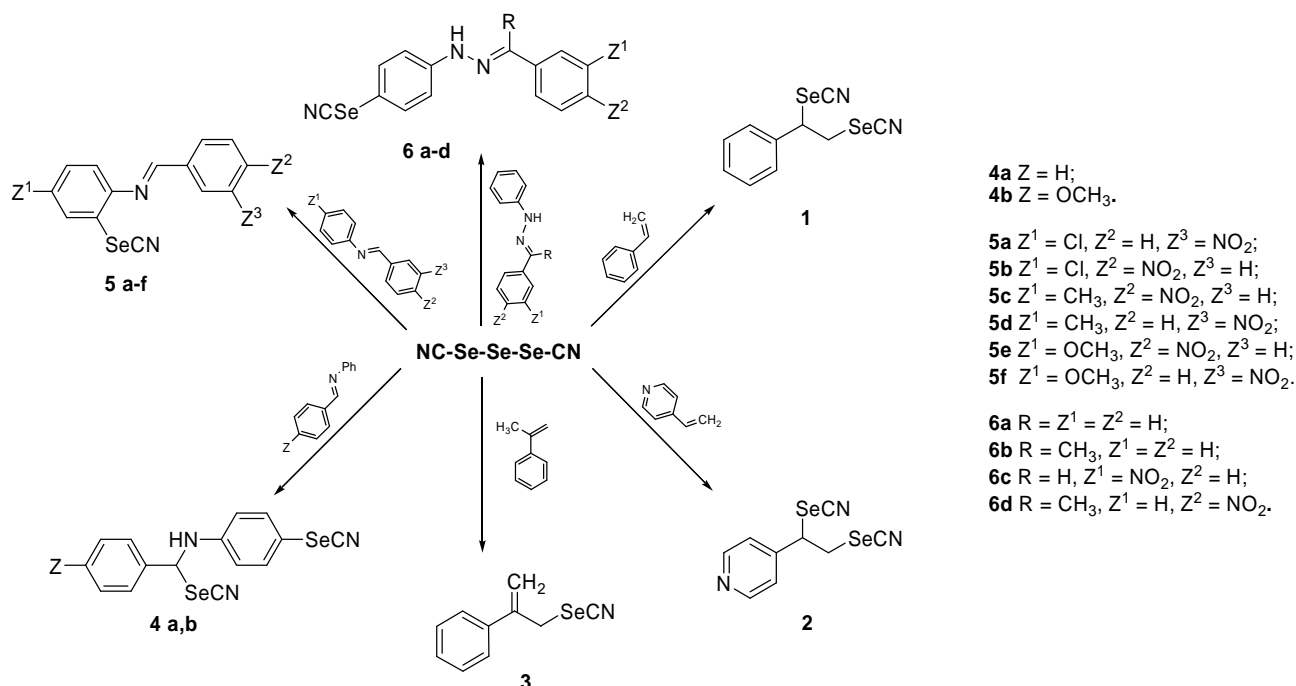
Н.Г. Сидоров, В.А. Каминский

Дальневосточный государственный университет

Электронная почта: nsidorov@chem.dvgu.ru

Триселендицианид (ТСД), впервые полученный и описанный более 100 лет назад, известен в качестве селеноцианирующего реагента, применяемого в синтезе ароматических и металлоорганических соединений.

Недавно разработанный метод получения триселендицианида взаимодействием малонитрила с диоксидом селена и последующего селеноцианирования субстратов методом *one-pot reaction*¹ сделал использование этого реагента более эффективным.



Нами было проведено селеноцианирование арилзамещенных алкенов и выделены продукты 1-3. Также были впервые получены продукты селеноцианирования оснований Шиффа (4 a,b; 5 a-f) и арилгидразонов карбонильных соединений (6a-d).

В случае арилзамещенных алкенов селеноцианирование проходит по алифатической двойной связи, не затрагивая ароматическое ядро. Для арилгидразонов селеноцианирование проходит по ароматическому ядру в незанятое *para*-положение к атому азота, не затрагивая двойную связь углерод-азот. Для оснований Шиффа селеноцианирование проходит как по двойной связи C=N, так и в *para*-положение по ароматическому ядру анилинового фрагмента. Для оснований Шиффа, имеющих заместитель в *para*-положении к атому азота, селеноцианирование проходит в незанятое *ortho*-положение, не затрагивая двойную связь C=N.

Структуры полученных продуктов доказаны с помощью ИК-, масс- и ЯМР-спектроскопии.

Антигенные свойства рекомбинантного неспецифического OmpF-подобного неспецифического порина наружной мембраны *Yersinia pseudotuberculosis*

О.В. Сидорова, О.Ю. Портнягина

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

Порообразующий OmpF-подобный порин из наружной мембраны (НМ) *Yersinia pseudotuberculosis* был экспрессирован путем трансформации кодирующей последовательности гена этого белка в клетках *E. coli* штамма BL21 (DE3). Рефолдинг рекомбинантного белка (**РБ**), выделенного из телец включения, позволил получить функционально активный порин в мономерной (**РБ-1**) и олигомерной (**РБ-2**) формах.

Для исследования антигенной структуры молекулярных форм **РБ**, использовали метод ИФА с сыворотками кроликов, иммунизированных мономерной и тримерной молекулярными формами порина, выделенными из НМ псевдотуберкулезного микроба. Ни в том, ни в другом случае не наблюдалось полноты связывания соответствующих специфических антител с **РБ**, на основании чего можно сделать вывод, что структура антигенных детерминант **РБ**, прошедших процедуру рефолдинга, лишь частично соответствует структуре аналогичных детерминант изолированных поринов. Скорее всего, общими являются так называемые «линейные» антигенные детерминанты, которые соответствуют отдельным участкам аминокислотной последовательности, а различия определяются на уровне «составных» или «конформационных» детерминант, формирующихся на уровне третичной и четвертичной структуры белка.

Известно, что порины относятся к высокоиммуногенным компонентам НМ бактерий. Иммуный ответ к поринам характеризуется высоким уровнем антител, полученных в результате как искусственной, так и естественной иммунизации. **РБ-1** и **РБ-2** также оказались иммуногенными для мышей, полученные сыворотки имели титр 4,1 и 2,5, соответственно.

В литературе имеются сведения о том, что иммунизация животных рекомбинантными белками, находящимися в растворе цвиттерионного детергента Zwittergent 3-14, так же эффективна, как иммунизация в смеси с полным адьювантом Фрейнда. Действительно, оказалось, что интенсивность иммунного ответа у мышей при иммунизации их **РБ** в растворе Zwittergent 3-14 превышает аналогичный показатель при иммунизации **РБ** с адьювантом Фрейнда, применение которого в последнее время вызывает много споров ввиду его токсичности и аллергенности.

Известно, что применение рекомбинантных белков в качестве антигенов в диагностических тест-системах, повышает их чувствительность и позволяет избежать гипердиагностики. Ранее в Лаборатории молекулярных основ антибактериального иммунитета ТИБОХ была разработана ИФА тест-система на основе порина НМ *Y. pseudotuberculosis* для диагностики различных форм псевдотуберкулеза. Рекомбинантный порин был использован в качестве антигена в данной тест-системе. Было показано, что с помощью **РБ-1** в сыворотках крови в диагностическом разведении (1:800) обнаруживаются специфические антитела, как у больных с острой формой, так и у больных с симптомами, характерными для вторично-очаговых форм псевдотуберкулеза. Кроме того, оказалось, что **РБ** выявляет специфические антитела в среднем в 1,3 раза эффективнее по сравнению с нативным порином НМ псевдотуберкулезного микроба, который используется как стандартный диагностический антиген.

Таким образом, установлено что, несмотря на частичное соответствие антигенной структуры **РБ** и поринов, солюбилизированных из НМ, применение рекомбинантного аналога иммунодоминантного белка в качестве диагностического антигена, повышает чувствительность диагностической тест-системы.

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

**Ультраструктура оболочек вокруг метацеркарий *Liliatrema* sp.
из морского петушка *Alectrias alectrolophus* (Pallas, 1814)**

Е. М. Скоробрехова

Институт биологических проблем Севера, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: corynosoma@mail.ru

Согласно современным представлениям метацеркарии, развивающиеся в мышцах рыб, заключены в клеточную капсулу (Березанцев Ю. А., Добровольский А. А. // Тр. Астрахан. Заповедн., 1968. Вып. 11. С. 7-12; и др.). Во многих случаях инкапсулированные личинки, кроме того, могут формировать многослойную (Wittrock D. D., Bruce C. S., Johnson A. D. // J. Parasitol. 1991. V. 77. P. 454-460) или однослойную цисту (Безр С. А. Биология возбудителя описторхоза. М.: КМК. 2005.), механизм образования которой не ясен (Галактионов К. В., Добровольский А. А. Гермафродитное поколение трематод. Л.: Наука. 1987). Метацеркарии рода *Liliatrema* также окружены оболочкой, в составе которой гистологически определены внутренний гомогенный слой неясного происхождения и многослойная капсула из клеток хозяина (Скоробрехова Е. М., Никишин В. П. // Матер. Дальневост. рег. конф. Магадан: СВНЦ ДВО РАН. 2006. С. 409-411). С целью уточнения структуры капсулы нами проведено изучение ее тонкого строения. Метацеркарии *Liliatrema* sp. извлекались из мускулатуры бурого морского петушка и препарировались по стандартной методике электронной микроскопии.

У всех исследованных личинок отмечены две легко разделяющиеся оболочки: внутренняя и наружная. Внутренняя оболочка плотная, состоит из гомогенного материала, уплотненного в виде узкой полоски на ее внешней поверхности. Структура этой оболочки позволяет рассматривать ее как цисту, формируемую паразитом. Прилегающая к ней более мощная наружная оболочка является капсулой и состоит из клеток и коллагеновых фибрилл. Светомикроскопически в ней выделяются внутренняя светлая и наружная более плотная зоны. Светлая зона визуально содержит больше клеток, а наружная включает большее количество фиброзных элементов. Среди клеток можно выделить не менее трех разновидностей. Наиболее многочисленны фибробласты – крупные клетки с многочисленными отростками, цитоплазма которых отличается развитой гранулярной эндоплазматической сетью (ГЭС). Среди фибробластов часто выявляются не менее крупные клетки, цитоплазма которых помимо элементов ГЭС, рибосом и митохондрий включает гранулы, количество, форма, размеры и структура которых варьируют. Возможно, эти клетки представляют собой разновидности фагоцитов. В составе капсулы также обнаружены мелкие клетки с высоким ядерно-плазменным отношением. Их ядра отличаются серповидной формой, а относительно плотная цитоплазма содержит рибосомы, цистерны ГЭС, округлые митохондрии и гранулы. Вблизи внутренней поверхности капсулы заметны небольшие участки некроза. Толща капсулы была пронизана немногочисленными сосудами. В наружной части капсулы и, чаще, между ней и окружающей мускулатурой наблюдались отростки пигментных клеток.

Таким образом, исследованные метацеркарии окружены капсулой, образованной клетками хозяина, и, предположительно цистой, сформированной паразитом. Как и у большинства метацеркарий других видов капсулы лилиатрем состоят преимущественно из фибробластов и синтезируемых ими коллагеновых фибрилл. Наличие в капсулах макрофагов и лейкоцитов рассматривается как ответная реакция хозяина на инвазию (Березанцев Ю.А., Борщук Д. В., Оксов И. В., Чеснокова М. В. // Паразитол. сб. Л.: Наука. 1989. С. 131-160) и как механизм утилизации погибших клеток (Walker D. J. and Wittrock D. D. // J. Parasitol. 1992. V. 78. P. 725-730), накапливающихся в пространстве между цистой и капсулой. В нашем случае такое пространство с остатками клеток не выявлено, и циста вплотную прилежала к капсуле, однако во внутренней части последней наблюдались локальные некротические изменения. Можно предполагать, что паразит, формируя цисту, изменяет первоначальную активную клеточную реакцию хозяина на изолирующую.

Работа поддержана грантами ДВО РАН (№ 06-III-A-06-178) и РФФИ – ДВО РАН «Дальний Восток» (№ 06-04-96027).

Грибные комплексы аквапочв Сахалинского залива (о. Сахалин)

Н.Н. Слинкина¹, М.В. Пивкин¹, О.В. Полохин²

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН

²Институт почвоведения и агрохимии СО РАН

Электронная почта: slinkina@piboc.dvo.ru

Микроскопические грибы являются одним из основных компонентов микробиоты аквапочв. Нами изучено 11 образцов аквапочв, отобранных в литоральной зоне акватории Сахалинского залива на глубинах 13-54 м, и определен качественный и количественный состав грибных комплексов исследованной акватории.

С помощью общепринятых методов выделения получено 644 изолята микроскопических грибов и идентифицировано 80 видов из 35 родов. Из них 11 видов включают представители сумчатых грибов, относящиеся к 8 родам. Среди аскомицетов разнообразно представлены пиреномицеты (6 видов из 5 родов); меньшее разнообразие наблюдается среди плектомицетов (5 видов из 3 родов). Морфологическая группа анаморфных грибов включает 69 видов, относящихся к 27 родам. В основном это виды из родов *Penicillium* (21 вид), *Aspergillus* (9), *Acremonium* (7), *Scopulariopsis* (4), *Beauveria* (2), *Chrysosporium* (1), *Blastomyces*, *Sporotrichum* и некоторые другие. Наиболее распространенными и доминирующими по численности видами в исследуемой акватории оказались следующие представители мицелиальных грибов: *Emericellopsis glabra*, *Pseudeurotium ovale* var. *ovale*, *Geomyces pannorus*, *Penicillium restrictum*, *Wardomyces inflatus*. Для аквапочв данной акватории характерно высокое содержание стерильного мицелия, показатели встречаемости и массовости которого значительно выше показателей всех остальных видов (около 72 и 12% соответственно). Стерильный мицелий в большом количестве выделялся из илистых аквапочв как восточной, так и западной части залива, тогда как в галечных аквапочвах отсутствовал.

В связи с особенностями гидрологического режима акватории залива выявлены значительные различия в структуре грибных комплексов его западной и восточной (район стоковой линзы реки Амур) частей, что выражается в разнообразии комплексов грибов и содержании пропативных структур (18 и 77 видов соответственно, среднее значение относительной плотности грибных пропагул 0.47 и 16.8 пропагул/г соответственно). Такие различия во многом объясняются привнесением большого количества органики, накапливающейся на дне стоковой линзы: в среднем содержание общего органического углерода в образцах стоковой линзы составляет 0.38% от сухой массы, что в 2 раза превышает его содержание в образцах западной части акватории. Методом многомерного корреляционного анализа показано существенное влияние совокупности факторов глубины и концентрации органического вещества на показатели биоразнообразия грибных комплексов, а также достоверная связь между механическим составом образцов аквапочв и показателями биоразнообразия.

Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации «Ведущие научные школы РФ (6477.2006.4)», грантами РФФИ (05-04-48211, 05-04-48291-а), ДВО РАН (06-III-A-06-184), грантами президиума Российской академии наук «Молекулярная и клеточная биология», «Биологические ресурсы России: фундаментальные основы рационального использования».

Гистологические изменения в печени камбалы *Pleuronectes pinnifasciatus* из Амурского залива

И.Г. Сяпина¹, Н.А. Швед²

¹Институт биологии моря ДВО РАН, Владивосток, Россия

²Дальневосточный государственный университет, Владивосток, Россия

Цель настоящего исследования – продолжить мониторинговые исследования экологического состояния Амурского залива с использованием в качестве вида-индикатора полосатой камбалы *Pleuronectes pinnifasciatus*.

При микроскопическом исследовании печени камбал со станций Тавричанка и Де-Фриз выявлены 9 основных типов патологических изменений: вакуолизация гепатоцитов, некроз гепатоцитов, воспаление, некроз эпителия желчных протоков, увеличение числа и размеров меланомакрофаговых центров (ММЦ), гиперемия, плеоморфизм ядер гепатоцитов, пикноз ядер гепатоцитов и отек печени.

В 2001 г. был произведен анализ печени полосатой камбалы из кутовой части Амурского залива в районе станции Тавричанка, выявлены четыре типа патологических изменений: вакуолизация гепатоцитов, некроз гепатоцитов, воспалительная реакция и некроз эпителия желчных протоков. В 2005 г. проведен такой же анализ. В ходе исследования выявлено значительное увеличение спектра патологических изменений в 2005 г и снижение частоты встречаемости патологий в 2006 г.

Выделение биологически активных полипептидов из морских гидробионтов

В.М. Табакмахер¹, С.С. Кравченко¹, М.М. Монастырная²

¹Дальневосточный государственный университет

²Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН

Электронная почта: tabval@yandex.ru

Морские гидробионты – источники огромного разнообразия биологически активных полипептидов (БАП), которые находят широкое применение в качестве моделей для дизайна фармакологических препаратов, а также в качестве инструментов исследования молекулярной организации и механизмов функционирования биологических мембран. Выделение и установление структуры и функции таких соединений из природных объектов является одной из сложнейших задач химии белков и пептидов.

Для поиска и исследования БАП были использованы водные, водно-этанольные, а также этанольные экстракты тропической актинии *Radianthus macrodactylus* (тип Coelenterata). Ранее из этанольного экстракта этой актинии было выделено несколько нейротоксинов, модификаторов Na⁺-каналов (5 кДа), несколько ингибиторов сериновых протеиназ (6 кДа), модификатор ваниллоидного рецептора TRPV1, а из водных экстрактов – мембраноактивные полипептиды: цитолизин I-ой группы (6 кДа), ингибируемые сфингомиелином цитолизин II-ой группы (или актинопорин, 20 кДа) и фосфолипазы (30 кДа).

В результате биологических испытаний водного, 50%-ного водно-этанольного и этанольного экстрактов *R. macrodactylus* на крабах было установлено, что в водно-спиртовом экстракте содержатся белковые компоненты как с нейротоксической активностью, так и с гемолитической, в то время как в спиртовых – только с нейротоксической, а в водных – с гемолитической.

Для первичного выделения нейротоксинов и ингибиторов протеиназ, содержащихся в водно-этанольном экстракте, а также полипептидов с обезболивающей активностью из суммарной белковой фракции *R. macrodactylus* использовалась хроматография на гидрофобном сорбенте полихром-1 (Олайне, Латвия), так как эти полипептиды содержат большое количество гидрофобных аминокислот. Благодаря гидрофобной хроматографии удалось избавиться от большой массы балластных белков, липидов и пигментов, содержащихся в водно-этанольном экстракте, была также решена проблема обессоливания экстракта актинии. Одновременно с обессоливанием на полихроме происходило концентрирование водных растворов полипептидов. Высокая емкость сорбента и его гидродинамические свойства обеспечили возможность получения полипептидов в препаративных количествах, достаточных для дальнейших исследований. Элюцию адсорбированных на полихроме-1 полипептидов проводили ступенчатым градиентом этанола от 0 до 60%. Наиболее токсичные белковые фракции элюировались 20%-ным этанолом. Значение летальной дозы белковой фракции (LD₁₀₀) составило 30 мкг/кг краба.

Все лиофилизированные после упаривания этанола фракции будут подвергнуты дальнейшим испытаниям на наличие антимикробной активности, а также анальгезирующее действие *in vitro* на экспериментальных животных и рецепторах TRPV1, экспрессированных в ооцитах лягушки *Xenopus laevis*.

Генетические процессы в гибридных зонах у гольцов рода *Salvelinus* на основе ПЦР-ПДРФ анализа гена гормона роста I

А.В. Турленко

Институт биологии моря, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: anna-turlenko@rambler.ru

Природные гибридные зоны представляют собой области, где периодически или постоянно происходит успешное скрещивание особей из популяций, отличающихся по каким-либо генетически наследуемым признакам. О степени совместимости исходных геномов и величине предшествующей дивергенции популяций можно судить по результатам вторичного контакта. Гибридизация способна повысить изменчивость природных популяций, и, таким образом является поставщиком материала для естественного отбора. Эволюционная судьба самой гибридной популяции может быть различной. При определенных условиях она может стабилизироваться и даже дать новый таксон; в других случаях, напротив, возможна интрогрессия и слияние. Причины для появления гибридных зон могут быть различны: крупные геологические изменения ландшафта, наступления и отступления ледников, а в последнее время антропогенные изменения биотопов и искусственные интродукции, приводящие к вторичным контактам между ранее разделенными популяциями и видами. Молекулярная генетика предоставляет огромные возможности для исследования разнообразия в разных систематических группах благодаря высокому разрешению ДНК-анализа. Она играет важную роль в распознавании криптических и сестринских видов, когда традиционные морфологические и биологические подходы беспомощны.

Проведено генетическое исследование мальмы *Salvelinus malma malma* и *S. m. krascheninnikovi* и мидии *Mytilus trossulus* и *M. galloprovincialis* на предмет наличия гибридных зон в местах их возможного контакта. Материал по гольцам (89 особей) был собран в четырех реках: р. Оук-Крик, Аляска, р. Паратунка, п-ов Камчатка, р. Вал и р. Белая, о. Сахалин. Мидии (214 особей) были собраны с коллекторов в заливе Петра Великого в трех точках: Уссурийский зал., зал. Посъет (б.Новгородская, б. Мраморная). Из ткани сердечной мышцы рыб и печени и жаберных лепестков моллюсков была выделена тотальная ДНК, после чего была проведена амплификация гена гормона роста I с парой праймеров GHI для рыб и амплификация видоспецифичного участка гена биссуса у моллюсков. Амплифицированные фрагменты мальмы обрабатывались рядом ферментов рестрикции, среди которых наиболее интерпретируемая картина была получена после обработки всех проб ферментом *MspI*. Полученные фрагменты разгонялись в 1.5 – 2.2% агарозном геле.

Данный анализ позволил сделать выводы, среди которых то, что в популяциях гольцов выявлена клина – увеличение числа возможных гибридных особей с севера на юг. В популяции Аляски не обнаружено гибридных особей, в популяции Камчатки доля гибридных особей возрастает, а в популяциях Сахалина уже большая часть особей имеет гибридный геном. Также было показано, что зона гибридизации у двух подвидов гольцов довольно широкая и гибридные особи встречаются в популяциях от южной Камчатки до южного Сахалина. Отсутствие совпадения гибридных особей по мтДНК и ядерной ДНК, свидетельствует о том, что процессы гибридизации происходили в прошлом и несовпадение обусловлено возвратным скрещиванием гибридных форм с особями северного или южного подвидов. Для моллюсков также была определена гибридная зона и описана ее специфика (транзитность).

Все полученные выводы важны с точки зрения эффективности марикультурных хозяйств России, развития рыбной отрасли и глубокого изучения наиболее важных объектов морской биоты, поскольку изучаемые в работе объекты являются промысловыми как на Дальнем Востоке России, так и во многих странах мира.

Использование метода экстракции углекислым газом в сверхкритическом состоянии для получения биоактивной детоксикационной добавки «Ягель»

Е.С. Хлебный

Якутский государственный университет им. М.К. Аммосова

Институт биологических проблем криолитозоны, Сибирское отделение РАН

Электронная почта: Chicloon@yandex.ru

Сырьём для получения препарата «Ягель» являются слоевища лишайников рода Кладина, из которых, при обработке их диоксидом углерода в состоянии сверхкритической жидкости ($t > 31,3^{\circ}\text{C}$, давление > 73 атмосфер; оборудование российского производства) выделяют лишайниковые амино- β -полисахаридов и ряд других биологически активных веществ (БАВ).

Углекислый газ в сверхкритическом состоянии обладает хорошими экстрактивными свойствами. Для получения экстракта амино- β -полисахаридов и других БАВ из слоевищ лишайника нами использовалась установка CO_2 -экстракции собранная в г.Железногорске (рис.) фирмой «Экспро». Установка представляет собой замкнутую систему, по которой под давлением циркулирует CO_2 . Циркуляция осуществляется за счет испарения и последующей конденсации CO_2 . Постоянная температура испарителя (95°C) поддерживается за счет системы циркуляции горячей воды, которая состоит из насоса и проточного нагревателя. Низкая температура холодильника ($18-20^{\circ}\text{C}$) поддерживается за счет проточной холодной воды. Измельченный лишайник помещался в экстрактор (объем 2 литра) после чего по системе труб туда подавался углекислый газ в сверхкритическом состоянии. Общее время экстракции составляло 3 часа, включая загрузку сырья, получение экстракта и выгрузку шрота лишайника из экстрактора.

Анализ получаемых комплексов лишайниковых БАВ показал наличие в его составе антиоксидантов флавоноидной природы, орселиновых, леканоровых, гиофоровых, хиастовых кислот, хинонов (в том числе гидроксинафтохинонов); природных антибиотиков (усниновых кислот и их производных); радиопротекторов и веществ защищающих от действия УФ-излучения: гидроксидантрахиноновых и других ароматических пигментов, депсидонов, антраноринов, полиненасыщенных жирных кислот, включая ω -ненасыщенные жирные кислоты (эйкозопентаеновых и докозагексаеновых) и наиболее важных, с точки зрения снижения токсического (тимоэргического), постинтоксикационного и наркотического эффектов алкоголя - амино- β -олигосахаридных комплексов.

Установлено, что детоксикационная боидобавка «Ягель» в водочные изделия даже в отношении 1:100 в целях детоксикации и профилактики алкогольных патологий позволяет снизить в 2÷3 раза токсическое действие алкоголя при полном сохранении эйфорического эффекта; более чем в 20 раз уменьшить постинтоксикационный эффект, в 5,6 раз уменьшить скорость формирования наркоманической алкогольной зависимости.



Рис. Установка для экстракции углекислым газом в сверхкритическом состоянии

Также в модельных экспериментах показано, что амино- β -олигосахариды способны прочно связывать с твёрдых подложек холестерин (вероятно, исследования в этом направлении могут привести к созданию противоатеросклеротических препаратов), вещества запаха (весьма перспективно при применении в парфюмерной и косметической промышленности), целый ряд гетероциклических ароматических и серосодержащих соединений, в том числе кишечные токсины (перспективно в целях создания препаратов для дезинтоксикации при пищевых отравлениях).

Маннан-связывающие лектины морского ежа *Strongylocentrotus nudus* и их роль в эмбриогенезе

Е.В. Шамшурина¹, М.Г. Елисейкина¹, И.Ю. Петрова², А.А. Булгаков²

¹Институт биологии моря, Дальневосточное отделение РАН

²Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: eshamshurina@rambler.ru

Лектины - это обширный класс белков, обладающих общим свойством обратимо и избирательно связывать углеводы и углеводные детерминанты биополимеров без изменения их ковалентной структуры. На данный момент лектины обнаружены у организмов, находящихся на разных ступенях эволюции, начиная с наиболее примитивных форм жизни - вирусов и бактерий, что свидетельствует об эволюционной древности и универсальности системы углеводов - лектинового распознавания. Однако функции большинства лектинов остаются малоизученными.

Целью работы было выявить локализацию маннан-связывающих лектинов (МСЛ) в тканях *Strongylocentrotus nudus* и определить их роль в эмбриогенезе.

Методами иммунохимии и иммуноцитохимии с использованием поликлональных кроличьих антител к МСЛ морского ежа *S. nudus* удалось установить, что лектины присутствуют в организме как в растворенной в целомической жидкости, так и в связанной форме. Они содержатся в секреторных гранулах морулоподобных целоцитов, которые, очевидно, отвечают за синтез данных лектинов у морского ежа, входят в состав базальных мембран, обнаруживаются в цитоплазме яйцеклеток. Установлено, что МСЛ синтезируются в ооцитах в период вителлогенеза и присутствуют в эмбрионах на всех стадиях раннего развития, причем их количество остается относительно постоянным.

Блокирование МСЛ и их лигандов в ходе эмбрионального развития показало, что эти молекулы задействованы в процессе миграции эмбриональных клеток на стадии гастрюляции. Установлено, что МСЛ являются компонентом внеклеточного матрикса заполняющего бластоцель, а также образуют локальные скопления на поверхности клеток, выселяющихся в полость эмбриона. Контакт между лектинами внеклеточного матрикса и их лигандами – углеводными составляющими поверхностных рецепторов эмбриональных клеток, обеспечивает их направленную миграцию.

Применение метода механохимической обработки для получения комплекса природных веществ антибактериального действия

М.М. Шашурин, Г.В. Филиппова, Н.Г. Павлов, А.А. Шеин

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, г. Якутск, Россия

ГУ «Научно-практический центр «Фтизиатрия» МЗ РС (Я), г. Якутск, Россия

Использование механической обработки веществ основывается на физико-химических эффектах, общих для прикладной механохимии – от активации твердых веществ вследствие разупорядочения и образования дефектов, ускорения диффузионно-затрудненных стадий процессов в твердой фазе, до осуществления твердофазных химических реакций непосредственно в ходе обработки.

Одним из основных направлений применения механохимических методов в биотехнологии являются перевод водонерастворимых биологические активных веществ (БАВ) в растворимое состояние. Основываясь на этом, мы использовали данный метод для получения комплекса природных веществ антибактериального действия из слоевищ лишайников родов *Cetraria* и *Cladonia*.

Лишайники из родов *Cetraria* и *Cladonia* – лекарственные растения, используемые в народной медицине для лечения многих заболеваний. В слоевищах лишайников содержится до 80 % углеводов, половина которых представлена гомополисахаридом лихенином, а также изолехенином, обладающих, как иммуномодулирующими, противоопухолевыми, так и гепатопротекторными свойствами. Антибиотические свойства лишайников, обусловлены присутствием в слоевищах усниновой кислоты и её производных, относящейся к лишайниковым кислотам.

Показано, что предэкстракционная обработка сухого сырья с помощью механохимической технологии с добавлением сухой щелочи позволяет выделять более полную группу БАВ антибиотического действия, благодаря переходу плохо растворимых в воде и водно-спиртовых смесях ароматических фенолов в хорошо растворимые феноляты. Этим обеспечивается максимальное извлечение всего структурного спектра действующих веществ, что не позволяет формироваться реакции устойчивости микроорганизмов к данному антибиотическому комплексу.

Были проведены сравнительные исследования антибактериального действия 40% водно-спиртовых экстрактов из слоевищ лишайников - без дополнительной обработки (экстракт №1) и с применением механохимии (экстракт №2).

Показана полная лизирующая способность экстракта №2 в отношении восьми условно-патогенных и патогенных бактериальных штаммов, включая *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, гемолитическую *E.coli* и др. Экстракт №1 показал высокую эффективность только в отношении *Klebsiella pneumoniae*. В остальных случаях отмечена, либо едва заметная попытка к лизису, либо микроорганизмы лизировались частично. При действии экстракта № 1 (в разведениях 1:1, 1:2, 1:4) на клинические штаммы *Mycobacterium tuberculosis* отмечалось отсутствие роста микобактерий на средах (бактерицидное действие). В разведении 1:8 происходила задержка начального и интенсивного роста по сравнению с контрольным посевом. Бактерицидное действие экстракта № 2 на клинический штамм *Mycobacterium tuberculosis* наблюдалось в разведениях 1:1, 1:2, 1:4, 1:8. Начиная с разведения 1:16, происходила задержка на 7-6 дней начального и интенсивного роста микобактерий туберкулеза (МБТ). Экстракт в разведении 1:16 оказывал выраженное бактериостатическое действие на МБТ. В опытах на мышцах была показана 100% эффективность лечения туберкулезного процесса экстрактом №2, по сравнению с контрольной группой и группой с использованием экстракта № 1, где летальность составила 80% и 60%, соответственно.

Механохимическая обработка отходов древесины лиственницы, как основная стадия получения дигидрокверцитина (суперантиоксиданта)

А.А. Шеин

Якутский государственный университет им. М.К. Аммосова

Электронная почта: bg98saa@yandex.ru

Дигидрокверцитин (ДКВ) относится к классу восстановленных флавоноидов и является представителем группы флаванон-3-олов. По химической структуре ДКВ является полифенолом. Препарат дигидрокверцитина признан важнейшим Р-витамином, который обеспечивает жизнедеятельность человека и отвечает за сопротивляемость живых организмов к различным патологиям и вирусным заболеваниям. В пищевой промышленности ДКВ применяется в качестве природного консерванта для продления сроков хранения и повышения защитной анти-окислительной, антиплесневой, противодрожжевой активности. В последнее время накапливается все больше данных о том, что причиной повреждения металлических и неметаллических конструкций является биокоррозия, которая вызывается жизнедеятельностью микроорганизмов. Микроорганизмы в анаэробных условиях выделяют большое количество активных форм кислорода, которые и вызывают коррозию. ДКВ как сильный антиоксидант способен инактивировать такой кислород и таким образом предотвращать коррозию.

С середины 90-ых годов XX века в России профессором В.А.Бабкиным в Иркутске налажено производство дигидрокверцитина из альтернативного сырья – корней, опилок, щепы и комлевая части (отходов лесозаготовок и лесопереработки) лиственницы Даурской, которая произрастает на Дальнем Востоке и в Якутии. Однако технология остаётся достаточно энергозатратной и экологически не вполне безопасной, т.к. включает стадию отгонки водонерастворимого ДКВ водным паром, с последующим выделением ДКВ из низкотемпературного предгидролизата лиственницы полиамидным сорбентом.

Нами отрабатывается механохимическая технология получения ДКВ из отходов лесозаготовки и лесопереработки лиственницы даурской. Суть метода заключается в механохимической обработке древесины лиственницы с добавлением в нее сухой щелочи и, таким образом, переводение содержащихся в ней флавоноидов в фенолятную форму, растворимую в воде. Далее производилась водная экстракция всех растворимых компонентов сырья, очистка их от нерастворимых частиц. Полученный экстракт закислялся при помощи соляной кислоты, что вызывало выпадение осадка с высоким содержанием ДКВ. Полученный осадок центрифугировали и отделяли от супернатанта, высушивали и определяли его антиоксидантную активность при помощи стандартной методики. При пересчете на чистый ДКВ полученные результаты показали, что данный метод позволяет сравнительно дешевым способом получить экстракт из древесины лиственницы содержащий 35-70% ДКВ в зависимости от качества сырья, из которого можно получать чистый ДКВ для использования в пищевой или фармацевтической промышленности, либо как технический сильный антиоксидант, не требующий особой чистоты (например, для целей предотвращения биодеструкции металлических и полимерных конструкций и сооружений, включая нефтепроводы). При разработке метода нами было также проведено изучение влияния усилия, создаваемого механохимической мельницей (время и скорость), на выход ДКВ из древесины. Выявлено, что при дроблении со скоростью 1500 об/мин в течение 2 мин (мельница АДО-2) выход дигидрокверцитина составляет 34% по отношению к изначальной массе опилок.

Морфофункциональная характеристика репродуктивной системы брюхоногих моллюсков из охраняемых и загрязненных районов залива Петра Великого Японского моря

А.В. Щеблыкина¹, И.Г. Сякина²

¹Дальневосточный государственный университет, Владивосток 690011

²Институт биологии моря имени А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток 690041

Исследовано строение и состояние репродуктивной системы у литторин *Littorina brevicula* и *L. mandshurica* из прибрежной зоны г. Владивостока, у нуцеллы *Nucella heyseana* из охраняемого района в зал. Восток и загрязненной части Амурского залива. Эти виды обследованы на наличие состояний импосекса и интерсекса - патологических изменений, обусловленных нарушением эндокринной регуляции при воздействии некоторых токсических веществ. В гонадах литторин выявлены патологические изменения: резорбция ооцитов и накопление липофусцина. Состояние интерсекса у литторин не зарегистрировано. Среди самок нуцеллы из Амурского залива обнаружены импосексуальные особи, у которых формировался пенис. Относительная длина пениса у самок составляла 25% от длины пениса у самцов. У нуцеллы из залива Восток данной патологии не выявлено. Проведен эксперимент по переносу нуцеллы из чистого биотопа (залив Восток) в среду, содержащую воду и донные осадки со Спортивной Гавани. В результате эксперимента наблюдалась развитие импосекса у 20 % особей *Nucella heyseana*.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Авилов С.А.	29	Новикова О.Д.	29
Анисимов М.М.	10	Одинцова Н.А.	21
Аньшакова В.В.	17	Павлов Н.Г.	44
Бардеева А.С.	19	Петрова И.Ю.	43
Башманов А.Г.	3	Пивкин М.В.	38
Безвербная И.П.	32	Полохин О.В.	38
Бочарова Е.С.	4	Полякова Н.В.	34
Брагин А.В.	5	Попов А.М.	29
Булгаков А.А.	43	Попова О.Б.	32
Булгаков В.П.	7,12,22	Попова Т.В.	15
Бурцева Ю.В.	6	Портнягина О.Ю.	29,36
Веселова М.В.	7	Пуцин И.И.	19
Герасимова Ю.В.	15	Рогатых С.В.	33
Годовикова Т.С.	15	Салун Т.А.	31
Гордина О.А.	6	Санина Н.М.	29,32
Грищенко О.В.	7	Сарин С.А.	34
Демидкова Д.А.	9	Сидоров Н.Г.	35
Демина Е.А.	10	Сидорова О.В.	36
Дорошенко А.М.	11	Скоробрехова Е.М.	37
Дубровина А.С.	12,22	Слинкина Н.Н.	38
Дышловой С.А.	14	Соболева Е.С.	26
Елисейкина М.Г.	43	Стасюк Е.М.	31
Ерченко И.А.	15	Сяпина И.Г.	39,46
Зайцева О.В.	16	Табакмахер В.М.	40
Иванова Е.И.	17	Тарасов В.Г.	28
Иваченко Л.Е.	31	Турленко А.В.	41
Калинин В.И.	29	Федоров С.Н.	14
Калманова В.Б.	18	Филиппова Г.В.	44
Каминский В.А.	27,35	Хлебный Е.С.	2
Каретин Ю.И.	19	Чернодод Г.К.	7
Касьян В.В.	20	Чубаров А.С.	15
Кипрюшина Ю.О.	21	Шамшурина Е.В.	43
Киселев К.В.	7,12,22	Шарина А.С.	17
Клещев М.А.	24	Шашурин М.М.	44
Кондратюк Е.Ю.	25	Швед Н.А.	39
Костецкий Э.Я.	29	Шейн А.А.	44,45
Костина Э.Т.	15	Шестак О.П.	10,30
Кравченко С.С.	40	Щеблыкина А.В.	46
Кудряшова Н.В.	15		
Лейченко Е.В.	26		
Липеева А.В.	27		
Лихацкая Г.Н.	32		
Лукьянов П.А.	21		
Ляхов Д.Г.	28		
Мазейка А.Н.	29		
Мартыяс Е.А.	30		
Маскальцова Е.С.	31		
Матвеева Е.С.	24		
Молчанова В.И.	21		
Монастырная М.М.	40		
Новиков В.Л.	10,30		

СОДЕРЖАНИЕ

Башманов А. Г. Фауна пелагических остракод подкласса Myodocora Северного Ледовитого океана.	3
Бочарова Е.С. Трофология <i>Aulactinia stella</i> (Anthozoa: Actiniaria) в Белом море.	4
Брагин А.В. Роль длительных наблюдений и территориальных условий эксперимента в доминантно-субординантных отношениях у самцов лабораторных мышей в модели социального доминирования.	5
Гордина О.А., Бурцева Ю.В. Внеклеточная фукоидан-гидролаза морского гриба <i>Penicillium fuscum</i> .	6
Грищенко О.В., Киселев К.В., Чернодед Г.К., Веселова М.В., Булгаков В.П. Состав полифенолов и фармакологические свойства клеточной культуры Маакии амурской <i>Maackia amurensis</i> .	7
Демидкова Д.А. Состав, распределение и хемотаксономическое значение жирных кислот рифообразующих кораллов.	9
Демина Е.А., Шестак О.П., Новиков В.Л., Анисимов М.М. Изучение взаимосвязи «структура – рострегулирующая активность» в ряду природных и синтетических циклопентановых β, β' -трикетонов на примере проростков гречихи.	10
Дорошенко А.М. Исследование загрязнения атмосферы в результате лесных пожаров в наиболее крупных населённых пунктах ЕАО.	11
Дубровина А.С., Киселев К.В., Булгаков В.П. Влияние гена <i>rolB</i> агробактерий на биосинтез резвератрола в культуре клеток винограда (<i>Vitis amurensis</i> Rupr.)	12
Дышловой С.А., Федоров С.Н. Новые противораковые вещества из морских губок <i>Aaptos</i> sp. и <i>Guitarra abbotti</i>	14
Ерченко И.А., Герасимова Ю.В., Кудряшова Н.В., Чубаров А.С., Костина Э.Т., Попова Т.В., Годовикова Т.С. Синтез спин-меченного человеческого сывороточного альбумина. Влияние гликирования на связывание альбумином поли(А)-последовательности.	15
Зайцева О.В. Анализ коррозионноопасной смешанной культуры СВБ, выделенной из Приобского нефтяного месторождения.	16
Иванова Е.И., Шарина А.С., Аньшакова В.В. Спектрофотометрическое определение подвижных соединений марганца в пробах почвы.	17
Калманова В.Б. Геохимическая трансформация почвенного покрова урбанизированных территорий (на примере г. Биробиджана).	18
Каретин Ю.А., Бардеева А.С., Пушин И.И. Сравнительная морфологическая характеристика и классификация ганглиозных клеток сетчатки крупночешуйного угая <i>Tribolodon hakonensis</i> (Pisces: Cypriniformes: Cyprinidae).	19
Касьян В.В. Влияние концентрации металлов в прибрежной акватории Амурского залива на состояние планктонного сообщества.	20
Кипрюшина Ю.О., Одинцова Н.А., Молчанова В.И., Лукьянов П.А. Влияние митилана, полисахарида из тканей мидий, на устойчивость личинок морских беспозвоночных к ультрафиолетовому облучению.	21
Киселев К.В., Дубровина А.С., Булгаков В.П. Экспрессия генов кальций-зависимых протеинкиназ в <i>rolB</i> -трансгенных культурах клеток винограда и женьшеня.	22
Клещев М.А., Матвеева Е.С. Генетические различия лабораторных мышей по сперматогенным показателям.	24
Кондратюк Е.Ю. Хемосигналы и репродуктивный успех самцов мышей при	25

активации неспецифического иммунного ответа.	
Лейченко Е.В., Соболева Е.С. Получение конструкции фрагмента гена, кодирующего зрелый актинопорин из актинии <i>Radianthus macrodactylus</i> , с плазмидным вектором.	26
Липеева А.В., Каминский В.А. Реакция 1,3 диполярного циклоприсоединения с участием пиридиниевых илидов.	27
Ляхов Д.Г., Тарасов В.Г. Применение телеуправляемых необитаемых подводных аппаратов для изучения донных сообществ и экологического мониторинга морских экосистем.	28
Мазейка А.Н., Попов А.М., Авилов С.А., Калинин В.И., Санина Н.М., Костецкий Э.Я., Портнягина О.Ю., Новикова О.Д. Комплексообразование тритерпеновых гликозидов голотурий с холестерином как основа липид-гликозидных носителей белковых антигенов.	29
Мартыяс Е.А., Шестак О.П., Новиков В.Л. Синтез корусканонов А и В – природных циклопентановых β, β' -трикетонов.	30
Маскальцова Е.С., Иваченко Л.Е., Стасюк Е. М., Салун Т.А. Обнаружение генетически модифицированных источников в соевых продуктах питания	31
Попова О.Б., Санина Н.М., Лихацкая Г.Н., Безвербная И.П. Изменение физико-химических свойств липидов <i>Pseudomonas putida</i> IB28 под влиянием ионов тяжелых металлов при различных температурах культивирования.	32
Рогатых С.В. Использование минеральных источников полуострова Камчатка в бальнеологической практике	33
Сарин С.А. Полякова Н.В. Исследование элементного состава объектов окружающей среды методом рентгенофлуоресцентного анализа с полным отражением (TXRF).	34
Сидоров Н.Г., Каминский В.А. Селеноцианирование замещенных алкенов, оснований Шиффа и арилгидразонов карбонильных соединений при помощи триселендицианида.	35
Сидорова О.В., Портнягина О.Ю. Антигенные свойства рекомбинантного неспецифического OmpF-подобного неспецифического порина наружной мембраны <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	36
Скоробрехова Е.М. Ультраструктура оболочек вокруг метациркардий <i>Liliatrema</i> sp. из морского петушка <i>Alectrias alectrolophus</i> (Pallas, 1814).	37
Слинкина Н.Н., Пивкин М.В., Полохин О.В. Грибные комплексы аквапочв Сахалинского залива (о. Сахалин).	38
Сяпина И.Г., Швед Н.А. Гистологические изменения в печени камбалы <i>Pleuronectes pinnifasciatus</i> из Амурского залива.	39
Табакмахер В.М., Кравченко С.С., Монастырская М.М. Выделение биологически активных полипептидов из морских гидробионтов.	40
Турленко А.В. Генетические процессы в гибридных зонах у гольцов рода <i>Salvelinus</i> на основе ПЦР-ПДРФ анализа гена гормона роста I.	41
Хлебный Е.С. Использование метода экстракции углекислым газом в сверхкритическом состоянии для получения биоактивной детоксикационной добавки «Ягель».	42
Шамшурина Е.В., Елисейкина М.Г., Петрова И.Ю., Булгаков А.А. Маннан- связывающие лектины морского ежа <i>Strongylocentrotus nudus</i> и их роль в эмбриогенезе.	43
Шашурин М.М., Филиппова Г.В., Павлов Н.Г., Шеин А.А. Применение метода механохимической обработки для получения комплекса природных веществ антибактериального действия.	44

Шеин А.А. Механохимическая обработка отходов древесины лиственницы, как основная стадия получения дигидрокверцетина (суперантиоксиданта).	45
Щеблыкина А. В., Сяина И.Г. Морфофункциональная характеристика репродуктивной системы брюхоногих моллюсков из охраняемых и загрязненных районов залива Петра Великого Японского моря.	46