

ХIII Всероссийская молодежная школа-конференция по актуальным проблемам химии и биологии, МЭС ТИБОХ, Владивосток 7–14 сентября 2010 г. : сборник трудов. Владивосток : ДВО РАН, 2009. – 87с.

В сборнике представлены тезисы устных и стендовых докладов студентов, аспирантов и молодых ученых, участников ХIII Всероссийской молодежной школы-конференции. В рефератах отражены результаты научных работ по приоритетным направлениям химии, биологии, прикладной биологии и медицины.

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

Оргкомитет молодежной школы-конференции

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

Члены оргкомитета: к.б.н. М.И. Кусайкин, к.б.н. Ю.В. Бурцева, к.х.н. Гладких И.Н.,
к.х.н. Н.В. Агеенко, А.М. Захаренко.

Редакционная коллегия: В.Е. Васьковский, М.И. Кусайкин,
Ю.В. Бурцева, А.М. Захаренко

Утверждено к печати Ученым советом
Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН

© ТИБОХ ДВО РАН, 2010

Характеристика популяции шримса-медвежонка из северо-восточной части залива Петра Великого Японского моря в осенне-зимний период

М.В. Астахов

Биолого-почвенный институт, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: mvastakhov@mail.ru

Материалом настоящего сообщения послужили результаты, полученные автором в ходе научно-исследовательских работ по изучению состояния популяции шримса-медвежонка (*Sclerocrangon salebrosa*, Owen, 1839) в заливе Петра Великого Японского моря. Работы проводились в северо-восточной части залива на глубинах 60–75 м, в пределах координат 42°43'–42°52' северной широты и 131°40'–132°15' восточной долготы. Ловы осуществлялись в сентябре-декабре 2002 г. в вечернее и ночное время с борта малого рыболовного сейнера. В качестве орудия лова использовался трал ДТ/ТВ 23,2 с размером ячеи в кутце 30 мм. Средняя продолжительность тралений ($n = 63$) составляла 1½ ч.

За период работ был произведен общий биоанализ 768 особей *S. salebrosa*. Средняя длина (L_{cp}) представителей данного вида на участке исследований равнялась 101,8 мм, а средняя масса (W_{cp}) – 20,8 г. Было отмечено некоторое преобладание самок – 54,8% общей выборки. В изолированной выборке самок модальный класс формировали особи длиной 125–130 мм (10% выборки). В изолированной выборке самцов самыми многочисленными были животные длиной 105–110 мм (26,5%). Наиболее крупная самка имела длину 182 мм и весила 102,4 г. Масса самого крупного самца (длина 142 мм) была равна 40 г. Минимальная длина, зарегистрированная для самок, оказалась равной 37 мм (при массе 1 г), а для самцов – 54 мм (3 г). Следует указать, что при характерном для *S. salebrosa* половом диморфизме (например, различия в строении плеопод), половозрелые самки заметно крупнее половозрелых самцов. В изученном материале доля половозрелых самок ($L \geq 125$ мм) составила 33,3 %, а половозрелых самцов ($L \geq 90$ мм) – 68 % особей соответствующего пола.

Со второй половины ноября на участке исследований наблюдалась массовая линька *S. salebrosa*. В это время животные имели мягкие наружные покровы, которые легко подвергались деформации. К концу декабря линяющие особи шримса-медвежонка встречались уже единично.

К середине декабря в уловах заметно возросла относительная численность младших возрастных групп. Так, если в первых числах ноября доля неполовозрелых животных составляла 4,2% среди самцов и 28,8% среди самок, то к третьей декаде декабря – уже 43,2% и 82,4% соответственно. При этом среди половозрелых самок наблюдалось уменьшение доли животных с наружной икрой: с 23,8% от общего числа половозрелых самок в начале ноября до 16% во второй половине декабря. В этот же период соотношение числа самок с наружной икрой на стадии «икра с глазком» (последняя стадия зрелости икры) к числу самок с наружной икрой на стадии «икра без глазка» изменилось с соотношения 1 : 9 до соотношения 1 : 1. Данное наблюдение свидетельствует о приуроченности нереста *S. salebrosa* из Залива Петра Великого (самый южный участок обитания этого северотихоокеанского вида) к холодному времени года.

**Молекулярно-генетические исследования трематод Дальнего Востока России:
первые данные секвенирования рибосомальной ДНК**

Д.М. Атопкин

Биолого-почвенный институт, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: pan2006_82@mail.ru

Трематоды (дигенетические сосальщики, класс Digenea) относятся к типу плоских червей (тип Platyhelminthes), являются облигатными паразитами животных и человека и распространены практически по всей планете (описано более 7000 видов). Они характеризуются сложным жизненным циклом, связанным с чередованием гермафродитного и партеногенетического поколений и использованием нескольких хозяев (моллюски, рыбы, птицы, млекопитающие).

В настоящее время одним из интенсивно развивающихся направлений в мировой науке является молекулярно-генетические исследования гельминтов. В России исследования паразитических червей на молекулярно-генетическом уровне только начинаются, о чем свидетельствует весьма небольшое количество данных и публикаций. На Дальнем Востоке России фауна паразитов, в том числе – трематод, молекулярно-генетическими методами практически не исследована. Между тем, подобные исследования необходимы для решения существующих вопросов систематики и изучения формирования современных ареалов трематод, становления взаимоотношений между паразитами и их хозяевами, оценки генетического разнообразия фауны трематод на Дальнем Востоке России, а также для получения возможности видовой идентификации разных стадий партеногенетического поколения трематод. Кроме того известно, что российский Дальний Восток является одним из центров биологического разнообразия и находится в непосредственной близости от очагов паразитарных заболеваний, вызываемых разными видами трематод (шистомоз, клонорхоз, парагонимоз и др.), широко распространенными в Китае и Корее.

В лаборатории паразитологии Биолого-почвенного института ДВО РАН получены первые молекулярные данные, отражающие генетическую характеристику дальневосточных видов трематод из двух разных семейств. Методом автоматического ПЦР-секвенирования получены нуклеотидные последовательности участка 28S рибосомальной ДНК для трех видов трематод рода *Psilotrema* семейства Psilostomatidae (паразиты птиц и млекопитающих), а также для 4 дальневосточных видов рода *Crepidostomum* (паразиты осетровых и лососевых рыб) семейства Allocreadiidae. По этим данным дана оценка генетической дивергенции исследованных видов и реконструированы их филогенетические связи.

На основании полученных данных установлено, что семейство Psilostomatidae является наиболее дивергентным по сравнению с другими представителями Echinostomatoidea по количеству трансверсионных замен. Это, возможно, является свидетельством раннего этапа более глубокой дифференциации Psilostomatidae в качестве надсемейства. Кроме того, подтвержден видовой статус *P. oschmarini*, описанный впервые в 2007 году на Дальнем Востоке России.

Виды рода *Crepidostomum* имели высокий уровень дифференциации между собой и характеризовались низкой внутривидовой генетической изменчивостью, включая *C. auriculatum*, представленного выборками из трех разных гемипопуляций. На филогенетических реконструкциях паразиты осетровых (*C. auriculatum*) и лососевых (*C. farionis*, *C. metoecus* и *C. nemahilus*) четко дифференцировались друг от друга. При попарном сравнении *C. auriculatum* с другими видами *Crepidostomum* отмечалось преобладание замен типа трансверсий, что характерно для таксонов высокого ранга, а генетическая изменчивость внутри вида практически отсутствовала. Эти данные свидетельствуют о недавнем освоении трематодами *C. auriculatum* осетровых рыб в качестве окончательных хозяев.

Синапсис и рекомбинация хромосом у полевок трибы MICROTINI.

П.М. Бородин^{1,2}, Е.А. Башева¹, О.А. Дашкевич², А.А. Торгашева¹,

¹Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики Сибирского
отделения РАН

²Новосибирский государственный университет

Электронная почта: dashkevicholesya@ngs.ru

Рекомбинация вносит значительный вклад в процессы генерации генетического разнообразия у организмов. Она обеспечивает спаривание гомологов в мейозе и их сегрегацию. Нарушения рекомбинации ведут к образованию анеуплоидных гамет, что в свою очередь, может приводить к стерильности или рождению потомков с хромосомными аномалиями. Поэтому исследование синапсиса и рекомбинации хромосом в мейозе млекопитающих представляется актуальным для решения ряда фундаментальных проблем, таких как причины возникновения и поддержания межвидовых отличий в общем уровне рекомбинации и различий в мейотическом поведении половых хромосом.

Объектами исследования в данной работе являются полевки трибы *Microtini*. Процесс видообразования в пределах данного рода характеризуется значительной экологической, морфологической, кариотипической и молекулярно-генетической дивергенцией. Благодаря этим особенностям, данная группа видов представляет собой крайне интересную модель для исследования эволюции синапсиса и рекомбинации.

В составе данной трибы обнаружены виды, у которых отсутствует свойство присущее практически всем плацентарным млекопитающим: синапсис и рекомбинация X и Y хромосом у самцов. Анализ разнообразия по этому признаку среди представителей данной трибы позволил уточнить филогенетические взаимоотношения между ними.

Целью данной работы было исследование синапсиса и рекомбинации аутосом и половых хромосом у представителей различных видов трибы *Microtini*

В данной работе были использованы методы электронной и иммунофлуоресцентной микроскопии. Иммунофлуоресцентное окрашивание проводилось с использованием антител против белка мисматч-репарации MLH1; бокового элемента СК SCP3; белка центрального элемента СК SCP1.

Был оценен общий уровень рекомбинации в аутосомах у самцов двух видов трибы *Microtini* (*Microtus rossiaemeridionalis* и *Microtus gregalis*.) Обнаружено близкое совпадение числа рекомбинационных событий на геном и гаплоидного числа хромосом у исследованных видов. Это показывает, что функция рекомбинации у полевок сводится к образованию в среднем одной хиазмы на бивалент, необходимой и достаточной для нормальной сегрегации гомологов. Можно полагать, что рекомбинационный процесс у данной группы видов не вносит существенного вклада в генерацию генетического разнообразия.

Обнаружен синапсис и рекомбинация в половых хромосомах у самцов видов *M. mujensis*, *M. maximowiczii*, *M. fortis*, *Lagurus lagurus*, *Eolagurus luteus*, *Chionomys gud*. У самцов видов полевок *M. gregalis*, *M. brandtii*, напротив, наблюдается асинапсис половых хромосом во время мейоза. Таким образом, синапсис и рекомбинация характерны для всех дальних родственников рода *Microtus* и полевок азиатской филогенетической линии. Это показывает, что общий предок всех *Microtus* имел нормальный и полностью функциональный псевдоаутосомный район. Он бы утрачен или инактивирован у всех *Microtus* палеарктической линии и у группы *Strenocranus* и *Lasiopodomys*, которая является сестринской группой к синаптическим полевкам азиатской группы, так и к асинаптическим полевкам палеарктической филогенетических линий.

Получение рекомбинантного маннан-связывающего лектина дальневосточного трепанга *Apostichopus japonicus* и восстановление его субстратной активности

А.А. Василенко, С.Н. Ковальчук, А.А. Булгаков, В.А. Рассказов

Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: vasilenkoanton@mail.ru

Актуальной проблемой современной медицины является рост числа онкологических заболеваний. Известно, что трансформация клетки в раковую приводит к нарушению нормальной структуры её гликопротеинов – появляются углеводные цепи с повышенным содержанием остатков маннозы [1, 2]. Это делает возможным иммунологическую диагностику опухолевых заболеваний, основанную на выявлении специфических антигенов. В целомической жидкости трепанга *A. japonicus* содержится маннан-связывающий лектин (МСЛТ), высокоспецифичный в отношении маннанов с разветвленной структурой. Была показана возможность использования тест-систем на основе МСЛТ для обнаружения в сыворотке крови онкофетальных антигенов в достаточно низкой концентрации [3, 4, 5]. В результате проведенных исследований на основе МСЛТ был разработан и запатентован способ диагностики рака шейки матки с помощью лектин-иммуноферментной тест-системы [6].

Несмотря на перспективность использования МСЛТ для диагностики онкологических заболеваний, перед его применением стоит ряд проблем: исходный материал труднодоступен, содержание лектина в нём низко, в настоящее время промысел *A. japonicus* находится под полным запретом. Представляется целесообразной и экономически перспективной разработка методики получения рекомбинантного аналога МСЛТ генно-инженерными методами.

В ходе исследования на основе плазмиды рQE-80L был получен экспрессирующий вектор рQE-80L-МСЛТ, содержащий кодирующий фрагмент кДНК МСЛТ. Проведена гетерологическая экспрессия МСЛТ в клетках *E. coli*, при этом показано, что лектин экспрессируется в нерастворимой форме. Для первичной очистки полученного лектина была применена проточная металло-аффинной хроматография. Проведена серия экспериментов по подбору оптимальных условий для восстановления активности рекомбинантного МСЛТ путём рефолдинга. С помощью иммуноферментного анализа было показано, что активность рекомбинантного МСЛТ после рефолдинга не превышает 15% от активности нативного лектина в той же концентрации. Для получения рекомбинантного МСЛТ в активной форме без проведения рефолдинга была проведена серия экспериментов по экспрессии МСЛТ в клетках *E. coli* в присутствии 5 различных систем белков шаперонов фирмы Takara. Было показано, что при использовании системы рTf-16 МСЛТ экспрессируется в растворимой форме. Для первичной очистки полученного лектина был синтезирован сорбент и проведена проточная аффинная хроматография. С помощью иммуноферментного анализа было показано, что активность полученного таким образом МСЛТ существенно превышает активность МСЛТ после рефолдинга, и составляет приблизительно 40% от активности нативного лектина в той же концентрации.

1. Maramatsu T. // Glycobiology. 1993. V. 3, № 4, P. 291-296.
2. Miura M., Fukuyama Y., Hirano T., Hirano M., Matsuzaki H., Oka H. // Clin. Chem. 1990. V. 35, № 3, P. 583-584.
3. Bulgakov A.A., Nazarenko E.L., Petrova I.Yu., Eliseikina M.G., Vakhrusheva N.M., Zubkov V.A. // Biochemistry (Moscow). 2000. V. 65, № 8, P. 933-939.
4. Булгаков А.А., Петрова И.Ю., Елисейкина М.Г., Вахрушева Н.М. // Биология моря. 1999. Т. 25, № 2, С. 91-93.
5. Bulgakov A.A., Eliseikina M.G., Petrova I.Yu., Nazarenko E.L., Kovalchuk S.N., Kozhemyako V.B., Rasskazov V.A. // Glycobiology. 2007. V. 17, № 12, P. 1284-1298.
6. Булгаков А.А., Родионова О.М., Апанасевич В.И., Петрова И.Ю., Елисейкина М.Г. // Федеральная служба по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам. 2007. № 2343485, МПК G01N33/53.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕКТИНОВЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ ПИЩЕВЫХ РАСТЕНИЙ

Ф.В. Витязев, В.В. Головченко, Н.Я. Михалева, Р.Г. Оводова
 Учреждение РАН Институт физиологии КНЦ УрО РАН,
 167982 г. Сыктывкар, Первомайская, 50
rodefex@mail.ru

Пектиновые полисахариды, входящие в состав пищевых волокон, являются неотъемлемым компонентом растительной клетки. По существующим ныне представлениям целлюлоза, гемицеллюлозы и пектиновые вещества не утилизируются организмом, а участвуют в деятельности пищеварительного тракта, в частности, в образовании гелеобразных структур и в стимуляции иммунной системы организма [1]. Недостаток пищевых волокон ведет к серьезным заболеваниям как пищеварительной системы, так и организма в целом. Поэтому для выяснения процессов трансформации растительных полисахаридов в организме животных и человека необходимо прежде всего исследовать их структуру, в том числе тонкие элементы строения макромолекул. В свою очередь, эта проблема ведет к постановке другой, не менее важной и сложной задачи, заключающейся в выделении полисахаридов из растительных тканей в условиях гастральной среды.

В настоящей работе представлены результаты исследований пектиновых полисахаридов, выделенных из съедобных частей перца болгарского *Capsicum annuum*, лука репчатого *Allium cepa*, чеснока *Allium sativum* и сельдерея корневого *Apium gravejens var. Rapaceum* в условиях модулирующих гастральную среду (в качестве экстрагирующего агента использовали раствор, имитирующий желудочный сок, который содержал соляную кислоту в присутствии фермента пепсина, 37-39°C, 4 часа) и ранее разработанным методом экстракции с помощью оксалата аммония, позволяющим получить пектины с наименьшей степенью деструкции [2].

Показано, что в условиях, приближенных к гастральным, и оксалатом аммония из исследованных пищевых растений экстрагируются сходные по структуре пектины. В условиях искусственной гастральной среды совместно с пектином происходит экстракция белковых компонентов.

Объект исследования	Экстрагирующий реагент	обозначение	Gal A	Белок	н.с
перец болгарский	раствор соляной кислоты	CA-1	78	5	9
	оксалат аммония	CA-2	81	8	6
лук репчатый	раствор соляной кислоты	AC-1	31	14	28
	оксалат аммония	AC-2	52	10	37
чеснок	раствор соляной кислоты	AS-1	30	24	33
	оксалат аммония	AS-2	56	13	20
сельдерей корневой	раствор соляной кислоты	AG-1	75	7	10
	оксалат аммония	AG-2	74	6	19

Gal A-галактуронозная кислота; мс - нейтральные моносахариды

1. Оводов Ю.С. Полисахариды цветковых растений: структура и физиологическая активность // Биоорганическая химия. 1998. Т. 24. №. 7. С. 483-501
2. Оводова Р.Г., Патова О.А., Головченко В.В., Попов С.В., Оводов Ю.С. Способ получения из растительного сырья полисахаридов, обладающих иммуностимулирующим действием // Патент на изобретение №2149642 09.08.1999. Зарегистрировано в гос. реестре изобретений РФ 27.05.2000.

Сульфатированные полисахариды бурых водорослей *Saccharina japonica* и *Desmarestia viridis*: выделение, структурные характеристики и биологическая активность

О.С. Вишук¹, С.П. Ермакова¹, Т.Н. Звягинцева¹

¹ Учреждение Российской академии наук Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН
Электронная почта: vishchuk@mail.ru

Бурые водоросли издавна используют в качестве пищевого продукта, а также как эффективное средство для лечения и профилактики многих заболеваний.

Главными компонентами биомассы водорослей являются полисахариды: альгиновые кислоты, ламинараны и фукоиданы.

В настоящее время особый интерес вызывают фукоиданы, поскольку они отличаются разнообразием биологического действия и содержатся только в морских иглокожих и водорослях. Антиоксидантные, антикоагулянтные, противовирусные, противоопухолевые и другие свойства фукоиданов интенсивно исследуются.

Однако, несмотря на обилие данных о биологической активности этих полисахаридов установление структуры фукоиданов водорослей является трудной задачей. Структурный анализ фукоиданов осложняется высокой степенью сульфатирования данных полисахаридов, присутствием в их составе кроме фукозы, других моносахаридов и ацетильных групп. Поэтому до сих пор трудно оценить границы структурного разнообразия фукоиданов, выделяемых из бурых водорослей, и, следовательно, связать проявление той или иной биологической активности с определенными структурными элементами фукоиданов.

Цель данной работы – выделение, определение структурных характеристик и изучение противоопухолевой активности сульфатированных полисахаридов из бурых водорослей *D. viridis* и *S. japonica*.

Показано, что сульфатированные полисахариды из *D. viridis* и *S. japonica* отличаются друг от друга по содержанию моносахаридных остатков и степени сульфатирования полисахаридов (Таб.1).

Таблица 1

Структурные характеристики сульфатированных полисахаридов из бурых водорослей *D. viridis* и *S. japonica*

Водоросль	Выход, %*	Содержание углеводов, %**	SO ₃ Na, % **	Моносахаридный состав, мол. %				
				Rha	Fuc	Gal	Xyl	Glc
<i>D. viridis</i>	13	25	33	6,2	31,2	35	23	0
<i>S. japonica</i>	30,7	36	23	1,48	38	51,3	4,14	4,42

* % от веса экстракта

** % от навески

Установлено, что фукоиданы нетоксичны по отношению к Т-47D и RPMI-7951 клеткам в концентрациях до 800 мкг/мл. Сульфатированный полисахарид из *D. viridis* обладает более сильным ингибирующим действием на пролиферацию Т-47D (IC₅₀ = 139 мкг/мл) и RPMI-7951 (IC₅₀ = 192 мкг/мл) клеток, чем фукоидан из *S. japonica* Т-47D (IC₅₀ = 760) и RPMI-7951 (IC₅₀ = 400 мкг/мл).

Показано, фукоиданы из *D. viridis* и *S. japonica* в концентрациях 50 мкг/мл уменьшают количество колоний раковых клеток Т-47D на 55 % и 52 %, соответственно. Обработка RPMI-7951 клеток фукоиданами из этих видов водорослей в концентрации 200 мкг/мл приводит к уменьшению количества колоний клеток на 49 и 38 %, соответственно.

Полученные результаты свидетельствуют о выраженном противоопухолевом действии фукоиданов бурых водорослей, что вместе с низкой токсичностью делает перспективным использование этих полисахаридов для разработки новых препаратов.

Растворимые комплексы хитозан-каррагинан

А.В. Володько, В.Н. Давыдова

Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: hochyuparis@mail.ru

В настоящее время продолжается поиск лекарственных средств и биологически активных добавок с минимальными побочными эффектами и широким спектром биологической активности. В качестве основы таких лекарств и биологически активных добавок можно рассматривать полисахариды природного происхождения.

Среди полисахаридов из морских гидробионтов наиболее известны хитозан и каррагинан. Они обладают разносторонней биологической активностью и разнообразными физико-химическими свойствами, находят широкое применение в промышленности и медицине. Благодаря полиионной природе хитозан и каррагинан могут быть использованы для получения разнообразных полиэлектролитных комплексов (ПЭК), что открывает возможность объединить физико-химические характеристики и биологическую активность исходных полимеров. В литературе описаны ПЭК хитозан-каррагинан, полученные в виде плёнок, микрокапсул и гелей.

Целью данной работы является исследование процесса формирования растворимых комплексов хитозан-каррагинан в зависимости от условий среды и физико-химических особенностей исходных компонентов, а также изучение их биологической активности.

Нами изучено влияние рН среды, концентрации и соотношения исходных компонентов, а также структуры каррагинана (К), молекулярной массы и степени ацетилирования (СА) хитозана (Х) на процесс формирования ПЭК. Для получения комплексов использовали хитозаны с молекулярными массами 143 (СА 1%), 11 (СА 1%) и 17 (СА 11%) кДа (обозначены как Х-ВМ, Х-НМ-1 и Х-НМ-2, соответственно) и каррагинаны различных структурных типов (κ/β-, κ-, х-каррагинан), выделенные из красных водорослей семейств Gigartinales и Thichosporales.

Ранее нами было показано, что процесс комплексообразования зависит от структуры каррагинана; молекулярной массы и степени ацетилирования хитозана; концентрации и соотношения исходных компонентов. Значение рН среды растворения полисахаридов (5,0-7,0) и тип выбранного буфера не оказывали существенного влияния на процесс формирования комплексов. Полученные ПЭК оставались стабильными в течение 24 часов.

Смеси Х:К 10:1 и 0,5:1 в/в, полученные при концентрации каррагинана 1 мг/мл в растворимой форме, были изучены методами гель-проникающей хроматографии и скоростного центрифугирования в градиенте перколлы. Установлено, что характер комплексообразования зависел от структуры каррагинана и соотношения исходных компонентов. Так, х-каррагинан полностью связывался с хитозанами при соотношениях Х:К 10:1 и 0,5:1 в/в с образованием двух типов комплексов, различающихся по молекулярной массе, тогда как κ-каррагинан – только при соотношении Х:К 0,5:1 в/в. При анализе смесей хитозанов с κ/β-каррагинаном (10:1 и 0,5:1 в/в) и κ-каррагинаном (10:1 в/в) наряду с образованием комплекса в смеси присутствовали исходные несвязанные компоненты.

Определены константы связывания и количество мест связывания Х-ВМ с каррагинанами. Установлено, что наибольшую константу связывания с поликатионом имеет х-каррагинан ($K_{св}=9,65 \cdot 10^7$ моль⁻¹).

Биологическая активность полученных комплексов была изучена на модели вируса табачной мозаики (ВТМ). При образовании комплекса с Х-ВМ каррагинаны в основном сохраняли свою способность ингибировать ВТМ. Антивирусная активность комплексов зависела от соотношения исходных компонентов. Так, наибольшую активность проявлял комплекс хитозан:κ/β-каррагинан (10:1 в/в), которая была соизмерима с активностью исходного κ/β-каррагинана и 6,3 раза превышала активность Х-ВМ. Комплексы κ- и κ/β-каррагинана с Х-ВМ (0,5:1 в/в) обладали более низкой активностью, чем исходный каррагинан. Активность комплекса х-каррагинан/хитозан была выше активности исходных компонентов

Синтез и строение гибридных органических – неорганических фтороцирконатов.

К.А. Гайворонская¹, А.В. Герасименко¹, Р.Л. Давидович¹, В.Б. Логвинова², Н.А. Диденко².

*Институт химии, Дальневосточное отделение РАН
проспект 100-лет Владивостоку, 159, 690022, г. Владивосток, Россия*

Электронная почта: kseiniyag2006@yandex.ru

Гибридные органические - неорганические соединения последнее время вызывают повышенный интерес благодаря разнообразию свойств, которыми они обладают. А именно, ионно-обменными, каталитическими, магнитными, ионно-проводящими и др., что делает их перспективными материалами.

В рамках проводимых работ в Институте химии ДВО РАН по синтезу и исследованию строения новых гибридных фтороцирконатов, нами впервые синтезировано и исследовано методами РСА, ДТА и ИК - спектроскопии соединение состава $[(\text{CH}_3)_4\text{N}]_2\text{ZrF}_6 \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot \text{HF}$ (**I**). Монокристаллы соединения получены взаимодействием $\text{ZrF}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ и органического основания $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$ (25% раствора), предварительно нейтрализованного фтористоводородной кислотой до кислой реакции (мольное отношение компонентов 1:4) и последующим упариванием раствора при комнатной температуре. Соединение **I** радиационно не стабильно и быстро разлагается на воздухе.

По данным термического анализа соединения **I**, в области температур 80-120 °С наблюдается обратимый фазовый переход. Последующее нагревание, в температурном интервале 120-180 °С, сопровождается разложением вещества с максимальной скоростью при 130 °С и образованием $[(\text{CH}_3)_4\text{N}]_2\text{ZrF}_6$ (**II**).

Методом РСА определено строение соединений **I** и **II**. Кристаллы **I** ромбические, пр. гр. $R\bar{3}cn$, ($a=11.322$ (4), $b=25.588$ (10), $c=11.218$ (4) Å; $\alpha= \beta= \gamma= 90^\circ$; $Z= 8$), они построены из островных октаэдрических анионных комплексов $[\text{ZrF}_6]^{2-}$, катионов тетраметиламмония $[(\text{CH}_3)_4\text{N}]^+$ и кристаллизационных молекул H_2O и HF . Посредством разветвленной системы Н-связей О-Н...F, F-Н...О и С-Н...F структурные фрагменты соединения объединяются в трехмерное образование.

В кристаллической структуре **II** ($a=8.044$ (11), $b=8.044$ (11), $c=20.325$ (4) Å, $\alpha= \beta=90^\circ \gamma=120^\circ$; пр. гр. $R\bar{3}$, $Z=3$) так же содержатся островные октаэдрические комплексные анионы $[\text{ZrF}_6]^{2-}$ и катионы тетраметиламмония $[(\text{CH}_3)_4\text{N}]^+$. Катионы и анионы в структуре объединены в трехмерный каркас водородными связями С-Н...F и ионными взаимодействиями.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 08-03-00355).

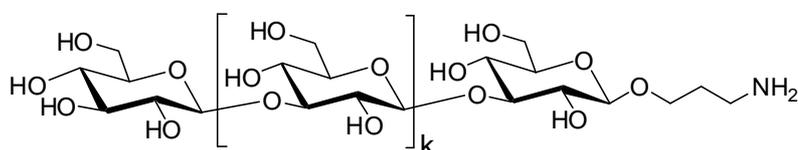
Конформационное исследование олиго- β -(1 \rightarrow 3)-D-глюкозидов, структурно родственных основному полисахариду клеточной стенки патогенных грибов, включая *Candida* и *Aspergillus*.

А.А. Грачев, А.Г. Гербст, А.А. Карелин, Д.В. Яшунский, Ю.Е. Цветков, Н.Э. Нифантьев
Институт Органической Химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Ленинский проспект 47,
119991, Москва.

Электронная почта: grachevaa@mail.ru

Поли- β -(1 \rightarrow 3)-глюкан является основным элементом клеточной стенки многих патогенных грибов, в том числе *Candida* и *Aspergillus* и обладает высокой иммунологической активностью. Для определения эпитопов в цепи поли- β -(1 \rightarrow 3)-глюкана, ответственных за его иммунологическую активность, нами проводится систематический конформационный анализ синтетических олигосахаридов, родственных фрагментам глюкана.

В настоящей работе проведено изучение серии линейных олиго- β -(1 \rightarrow 3)-D-глюкозидов с числом моносахаридных остатков от трех до тринадцати. Конформационный анализ проводился на основании данных ЯМР-спектроскопии [величин межпротонного ядерного эффекта Оверхаузера (ЯЭО) и величин констант спин-спинового взаимодействия (КССВ)] и данных теоретического моделирования (молекулярно-механические расчеты и молекулярно-динамические симуляции с использованием силового поля ММ3). При этом расчеты проводились с использованием разных моделей сольватации, в частности континуальной модели сольватации SASA и с заданием молекул растворителя H₂O в явном виде. Величины межпротонного ЯЭО были измерены с помощью гетероядерного эксперимента ¹H-¹³C HSQC-NOESY, что обусловлено сильным перекрыванием корреляций в спектрах NOESY; величины J_{C,H} констант были измерены с помощью J-HMBC и J-resolved экспериментов ЯМР.



k=1, 3, 5, 7, 9, 11

Анализ данных ЯМР и молекулярно-механического моделирования показал, что конформационные свойства дисахаридных фрагментов в линейных олиго- β -(1 \rightarrow 3)-D-глюкозидах не зависят критически от их положения в цепи и от длины цепи. При этом молекулярное моделирование, проведенное с использованием континуальной модели сольватации SASA, приводило к заниженным расчетным величинам КССВ по сравнению с экспериментальными величинами. В тоже время моделирование, проведенное с молекулами растворителя, заданными в явном виде, свидетельствовало о тенденции олигоглюкозидов к самоассоциации.

В ходе работы проведено полное отнесение спектров ¹H и ¹³C ЯМР исследуемых олигосахаридов на основании двумерных спектров. Определены закономерности между структурными факторами олигосахаридов и их спектральными характеристиками такими, как химические сдвиги и КССВ. Полученные характеристики были использованы для составления базы данных для автоматизированного компьютерного анализа соответствующих природных глюканов с помощью искусственных нейронных сетей.

Работа проведена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для молодых ученых МК-5544.2010.3 и Российского фонда фундаментальных исследований (№10-03-01012-а).

Влияние трансформации геном *rolB* на экспрессию генов биосинтеза изофлавоноидов в культуре клеток Маакии амурскойО.В. Грищенко¹, К.В. Киселев¹¹Биолого-почвенный институт, Дальневосточное отделение РАНЭлектронная почта: crab_ol@mail.ru

Маакия амурская *Maackia amurensis* Rupr. et Maxim. – ценное древесное растение сем. Бобовые *Fabaceae*, продуцирующее комплекс полифенолов (изофлавоноиды и стильбены), обладающих выраженной гепатопротективной активностью (Саратиков и др., 2005). Полученная в 2001 году культура клеток *M. amurensis* продуцировала изофлавоноиды и их гликозиды, суммарное содержание которых составляло 1.43 ± 0.17 % от сухой массы клеток (Fedoreyev et al, 2008). Трансформация данной клеточной культуры геном *rolB* агробактерий *Agrobacterium rhizogenes* привела к увеличению содержания изофлавоноидов в 1.5 раза и двухкратному увеличению продуктивности культуры клеток *M. amurensis* (до 202 мг/л среды) (Грищенко и др, 2009). Биосинтез изофлавоноидов в растениях идет по фенилпропановидному пути. Ключевыми ферментами биосинтеза изофлавоноидов являются фенилаланин-аммиак-лиаза (PAL) и халкон синтаза (CHS).

Целью нашего исследования было изучить экспрессию генов данных ферментов в векторной (MV) и *rolB* трансгенной культурах *M. amurensis*. Для этого использовали дегенеративные праймеры, подобранные к известным участкам последовательностей генов *PAL* и *CHS*. Согласно нашим результатам, общая экспрессия генов *PAL* одинакова в MV и MB-4 клеточных культурах *M. amurensis*. Качественный состав экспрессирующихся генов семейства *PAL* одинаков для культур MV и MB-4: это 9 генов (*MaPAL1*, *MaPAL2*, *MaPAL3a*, *MaPAL3b*, *MaPAL4a*, *MaPAL4b*, *MaPAL5*, *MaPAL6*, *MaPAL7*). Экспрессия отдельных генов - *MaPAL3a*, *MaPAL5*, *MaPAL6* - достоверно увеличилась в культуре MB-4 по сравнению с контролем.

Уровень общей экспрессии генов *CHS* в культуре MV составил 0.35 ± 0.19 ; в культуре MB-4 – 0.63 ± 0.19 относительных флуоресцентных единиц (отн. ед.). Качественный состав семейства генов *CHS* также не изменился в результате трансформации; в обеих культурах клеток данное семейство представлено 8 генами – *MaCHS1a*, *MaCHS1b*, *MaCHS1c*, *MaCHS1d*, *MaCHS1e*, *MaCHS2*, *MaCHS3*, *MaCHS4*. По сравнению с векторной культурой клеток в *rolB* трансгенной культуре клеток достоверно увеличилась экспрессия генов *MaCHS1d* и *MaCHS3*.

Таким образом, трансформация клеток *M. amurensis* геном *rolB* агробактерий не изменила качественного состава экспрессирующихся генов *PAL* и *CHS*, увеличила общую экспрессию генов *CHS* и привела к увеличению экспрессии отдельных генов данных семейств - *MaPAL3a*, *MaPAL5*, *MaPAL6*, *MaCHS1d* и *MaCHS3*. Не резкие изменения экспрессии ключевых генов биосинтеза изофлавоноидов подтверждаются мягким увеличением содержания изофлавоноидов (в 1.5 раза) и двухкратным увеличением продуктивности *rolB* трансформированной культуры клеток маакии MB-4. На основании полученных данных мы можем заключить, что даже небольшого изменения экспрессии отдельных генов достаточно для изменения биосинтетических возможностей клеток маакии амурской. Возможно, такое изменение связано с изначально высокой продукционной способностью клеток маакии, а также с большим количеством синтезируемых веществ (20 веществ, выделенных на данный момент).

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

Fedoreyev A.S., Bulgakov V.P., Grishchenko O.V., Veselova M.V., Tchernoded G.K., Zhuravlev Y.N. // J.Agric. Food Chem. 2008. V. 56. P. 7023-7031.

Грищенко О.В., Киселев К.В., Чернодед Г.К., Веселова М.В., Булгаков В.П. // XII Всероссийская молодежная школа-конференция по актуальным проблемам химии и биологии. Сборник трудов. 2009. С. 18-19.

Оценка загрязнения морской среды органическими веществами по гидрохимическим показателям и методом биоиндикации по сообществу диатомовых водорослей эпифитона в прибрежной акватории Амурского залива

Ю.А. Грищенко², А.В. Данилевская², К.С. Кузьменков², П.Т. Мансуров², Е.В. Левченко¹

¹Институт биологии моря, Дальневосточное отделение РАН

²Дальневосточный государственный университет

Электронная почта: leovit@mail.ru

По экспертным оценкам прошлого десятилетия вместе со сточными водами в Амурский залив поступает более 100000 тонн органических веществ [1]. Оценка загрязнения морской среды органическими веществами можно проводить по гидрохимическим показателям и методом биоиндикации по сообществам морских организмов. Биоиндикация по сообществам микроводорослей, т.е. изменение их биоразнообразия, может служить сигналом о любых неблагоприятных воздействиях на водоем [2]. Была проведена комплексная оценка качества морской среды в трех бухтах прибрежной акватории г. Владивостока по ряду гидрохимических показателей и по сообществу диатомовых водорослей эпифитона, которые наиболее удобно использовать в качестве биоиндикаторов сапробности [3]. Диатомовые водоросли эпифитона отбирали с макроводорослей и проводили качественный и количественный анализ проб.

Гидрохимический анализ не выявил существенных различий качества морской воды в исследуемых районах прибрежной акватории Амурского залива. В то же время в результате анализа видового и численного состава диатомовых водорослей в эпифитоне макрофитов на исследуемой акватории были определены эвтрофированные районы. Преобладание β -мезосапробионтов среди видов-индикаторов органического загрязнения в сообществе диатомовых водорослей эпифитона указывает на то, что исследуемые участки акватории Амурского залива, по-видимому, относятся к мезосапробному типу водоема.

Таким образом, показано, что использование метода биоиндикации по сообществу диатомовых водорослей эпифитона позволяет диагностировать ранние нарушения состояния морской среды, которые не выявляются по гидрохимическим показателям.

Список литературы:

1. Ващенко М. А. // Биология моря. 2000. Т. 23. № 3. С.146-159.
2. Барина С.С., Медведева Л.А., Анисимова О.В. // Биоразнообразие водорослей-индикаторов окружающей среды. Тель-Авив: Изд. дом "Pilies Studio". 2006. 498 с.
3. Левченко Е. В. // Уссурийский залив: современное экологическое состояние, ресурсы и перспективы природопользования / Владивосток: Издательство ДВГУ. 2009. С. 39-45.

Жирные кислоты и другие липиды кораллов охотоморского шельфа Курильских островов - молекулярное разнообразие и биологические маркеры.

Д.А. Демидкова, А.Б. Имбс

Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН

Электронная почта: koshkara@rambler.ru

Проведено изучение липидного состава массовых видов восьмилучевых кораллов, обитающих на шельфе Западной Камчатки: альционарии вида *Eunephtia fruticosa*, горгонари рода *Primnoa*, а также шестилучевого гидрокоралла *Errina antarctica*.

Около половины липидов кораллов составили триглицериды и воска, относящиеся к резервным классам липидов и, при необходимости, служащие источником энергии организмов. Гидрокораллы характеризовались повышенной долей триглицеридов (26%), тогда как в альционариях и горгонариях доля восков была выше (23-27%), чем доля триглицеридов. Среднее содержание полярных липидов, которые относят к структурным липидам, было значительно выше в альционариях и гидрокораллах (40% от общих липидов), чем в горгониевых кораллах (25% от общих липидов).

В составе ЖК общих липидов исследованных кораллов было идентифицировано более 70 компонентов. Сравнение содержания основных полиненасыщенных ЖК (Табл.1) показало, что содержание эйкозапентаеновой кислоты 20:5n-3, которая может рассматриваться как маркер растительных источников пищи (например, микроводорослей), в горгонариях заметно выше, чем в альционариях и гидрокораллах. Напротив, содержание арахидоновой кислоты 20:4n-6, которую можно считать маркером пищи животного происхождения (например, зоопланктона), значительно выше в альционариях. Очевидно, что состав пищи исследованных стематических групп кораллов заметно различается. В бореальных мягких кораллах найдены сверхдлинноцепочечные тетракозаполиеновые ЖК (24:5n-6 и 24:6n-3), которые являются хемотаксономическими маркерами октокораллов.

Таблица 1. Состав основных полиненасыщенных жирных кислот (% от общей суммы ЖК)

Жирные кислоты	<i>Amphilaphis sp.</i>	<i>Primnoa pacifica</i> (Kinoshita, 1907)	<i>Eunephtia fruticosa</i> (Sars, 1860)	<i>Erina antarctica</i> (Gray, 1872)
20:4n-6	1.8	1.7	28.5	0.2
20:5n-3	35.2	40.6	14.0	0.4
22:6n-3	5.2	2.8	3.0	12.3
24:5n-6	11.4	10.9	10.9	-

В двух видах кораллов было обнаружено шесть необычных гомологичных ЖК, содержащих в углеродной цепи метилзамещенный фурановый фрагмент – фурановых кислот (F-кислоты). F-кислоты составили до 5% от суммы ЖК. В гидрокораллах F-кислоты не найдены. Главной F-кислотой была 14,17-эпокси-15,16-диметилдокоза-14,16-диеновая кислоты, наибольшая концентрация которой была в альционарии *Eunephtia fruticosa*. Возможным источником F-кислот в кораллах могут быть микроводоросли, потребляемые с пищей, или фототрофные анаэробные бактерии, ассоциированные с организмом-хозяином.

Таким образом, в ходе проделанной работы: (1). Впервые проведен сравнительный анализ состава основных классов липидов, а также состава ЖК и виниловых спиртов общих липидов кораллов Охотского моря. (2). Установлены закономерности распределения нейтральных (резервных энергетических) липидов этих организмов, и незаменимых полиненасыщенных ЖК, которые являются биомаркерами различных источников пищи этих животных. Обнаруженные различия в содержании изученных компонентов указывают на различную пищевую стратегию исследованных таксономических групп кораллов. (3) В альционариях и горгонариях первые обнаружены необычные фурановые кислоты, которые можно рассматривать, как биомаркеры фототрофных бактерий.

Применение ингаляционной терапии на стационарном этапе реабилитации у больных хроническим бронхитом

М.А. Димова, С.В. Резникова

Амурская Государственная Медицинская Академия

Электронная почта: ssemioo@rambler.ru

Стационарный этап реабилитации начинают в одном из отделений больницы и завершают в организуемом при крупных стационарах специализированном реабилитационном отделении, где возможно выполнение индивидуализированных программ физических тренировок. На раннем госпитальном этапе применяют в соответствии с показаниями лекарственные и немедикаментозные виды лечения. На госпитальном этапе определяют адекватный двигательный режим, разрабатывают диетические рекомендации, своевременно выявляют и устраняют факторы хронизации и затяжного течения заболеваний, производят санацию очагов инфекции. Особое значение на этом этапе приобретает психическая реабилитация – проведения адекватного состоянию больного и строго индивидуализированного лечения психотропными средствами и применение методов психотерапии. Основной акцент на мероприятиях реабилитационного комплекса выполняется в отделениях восстановительного лечения больниц. Оценкой итогов реабилитационных мероприятий на стационарном этапе является заключение: выздоровление при острых заболеваниях или достижение фазы ремиссии при хронических. Бронхит хронический - диффузное прогрессирующее воспаление бронхов, не связанное с локальным или генерализованным поражением легких и проявляющееся кашлем. О хроническом характере процесса принято говорить, если кашель продолжается не менее 3 мес в 1 году в течение 2 лет подряд. Хронический бронхит-самая распространенная форма хронических, неспецифических заболеваний легких (ХНЗЛ), имеющая тенденцию к учащению. Сложности целенаправленного и систематического поиска специфических эффектов лечебных факторов физиотерапевтических процедур обусловили гиперболизацию принципов универсальности использования любых физических факторов, применяемых в физиотерапии, при различных заболеваниях, единства механизмов лечебного и профилактического действия природных и искусственных физических факторов, господствовавших в физиотерапии XX в. Между тем врачам хорошо известно, что физические факторы при различных заболеваниях обладают неодинаковой физиотерапевтической эффективностью. Неодинаковая природа заболеваний предполагает сочетание разных патогенетических вариантов (синдромов). Исходя из этого, реакции организма на физический фактор физиотерапевтической процедуры специфичны для определенного состояния организма, хотя лечебные эффекты иногда развиваются на основе общих (неспецифических) реакций организма. Такая специфичность требует целенаправленного выбора фактора физиотерапии и методики его применения, составляющего сущность патогенетического действия лечебных физических факторов. В этих условиях следование принципам «универсальности» и мнимого «единства» механизмов лечебного воздействия физиотерапии практически лишает врача возможности оптимального выбора лечебных физических факторов. Провести грань между специфическим и неспецифическим действием многих лечебных факторов физиотерапии сложно, Многие из них обладают несколькими эффектами, выраженными в разной степени, поэтому лучше ориентироваться на доминирующий лечебный эффект.

20 больных (25-60 лет) ХБ, обострение, длительность заболевания 3-10 лет. Назначались ингаляции минеральной воды. Процедуры проводились с помощью ультразвукового ингалятора «Вулкан-1». Размер частиц, генерируемых аппаратом от высоко- до низкодисперсных, что дает возможность осаждения частиц в различных отделах дыхательных путей. Ингаляции назначались со 150 мл минеральной воды, продолжительность процедуры 10 минут. Общее количество: 10 процедур, проводимых ежедневно. В результате воздействия выявлено улучшение дренажной функции бронхов за счет разжижения мокроты, активации функции мерцательного эпителия. Сократился срок госпитализации больных.

Картирование эпитопа, узнаваемого моноклональным антителом на ErbB-2, с помощью фаговой пептидной библиотеки.

М.Б. Дюкалова

ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор»

Электронная почта: dukerman@mail.ru

Использование комбинаторных фаговых пептидных библиотек позволяет относительно быстро и с большой вероятностью локализовать эпитоп антигена, с которым связывается изучаемое моноклональное антитело (МКА).

Целью данной работы было локализовать эпитоп для МКАТ, полученного с помощью гибридомной технологии компанией Abnova. Было известно, что эпитоп находится на N-конце рецептора эпидермального фактора роста (ErbB-2).

В работе мы использовали 7-мерную фаговую пептидную библиотеку Ph.D.-7TM фирмы New England Biolabs Inc.

После 3 раундов аффинной селекции были отобраны индивидуальные фаговые клоны и обнаружен мотив, отвечающий за связывание с антителом. В него входят три заряженных аминокислотных остатка: аспарагиновая кислота, лизин и аргинин. Каждый пептид был выровнен с помощью программы ClustalW с последовательностью, указанной производителем как источник полипептида для иммунизации. Поскольку известно, что именно полярные аминокислоты наиболее значимы для связывания антител, на белке ErbB-2 был выбран лишь один участок, сходство с которым оказалось за счёт указанных аминокислотных остатков.

Таким образом, мы можем с большой уверенностью предполагать, что обнаруженный нами район является специфичным для связывания данного МКАТ.

Tsunetsugu-Yokota Y., Tatsumi M., Robert V., Devaux C., Sprite B., Chermann J.-C., Hirsch I. // *Gene*, 1991. V. 99. P. 323-326
O. Yu. Tumanova, V. N. Kuvshinov, M. Sh. Azaev, A. E. Masharsky, N. A. Klimov, A. P. Kozlov, A. A. Plyichev and L. S. Sandakhchiev // *Molecular Biology*, 2001. V. 35. N.1. P. 130-133.
Ерошкин А. М. // *Молекул. Биология*, 1988. Т. 22. С. 635-644.

Полисахариды бурых водорослей *Sargassum* sp. и *Dictyopteris polipodioides* Средиземного моря

С.П. Ермакова, Т.Н. Звягинцева, Р.В. Соколова

Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН
Электронная почта: Sokolova-R@yandex.ru

Бурые водоросли являются богатым и возобновляемым сырьем для получения биологически активных полисахаридов: фукоиданов, ламинаранов и альгиновых кислот. Содержание альгиновых кислот в морских растениях изучено достаточно хорошо, поскольку давно доказано их важное значение для медицинской, фармацевтической и других отраслей промышленности. Содержание других, не менее ценных полисахаридов - фукоиданов и ламинаранов - остается малоизученным.

Нами была разработана комплексная схема выделения альгиновых кислот, водорастворимых нейтральных (ламинаранов) и заряженных (фукоиданов) полисахаридов. Выделены полисахариды из бурых водорослей рода *Sargassum* sp. и *Dictyopteris polipodioides* Средиземного моря и изучены их структурные характеристики. Схема выделения включает сочетание экстракций растворителями, растворами соляной кислоты и карбоната натрия, концентрирование, диализ, разделение на гидрофобном носителе Полихром-1 и анионообменную хроматографию на DEAE-MacroPrep.

Изучена композиция полисахаридов исследуемых водорослей: основным полисахаридом является альгиновая кислота, содержание водорастворимых полисахаридов было невысоким.

Исследован моносакхаридный состав нейтральных полисахаридов, полученных после разделения на Полихроме-1 и фукоиданов, полученных при анионообменной хроматографии на DEAE-MacroPrep. Показано, что нейтральные полисахариды являются гетерогенными, что согласуется с данными ^{13}C ЯМР-спектроскопии. Выделенные фукоиданы различаются по моносакхаридному составу и степени сульфатирования и не содержат белки. Фукоиданы, выделенные из *Dictyopteris polipodioides*, не содержат полифенолы, тогда как их содержание в фукоиданах, выделенных из *Sargassum* sp., варьируется от 1,8% до 7,6%.

Полученная информация позволяет сделать вывод о целесообразности использования данных водорослей как нового источника для получения альгиновых кислот. При комплексной переработке данных видов водорослей, широко распространенных в Средиземном море, могут быть получены полисахариды, представляющие огромный интерес как соединения, обладающие широким спектром биологического действия.

Применение полисахаридов бурых водорослей, как терапевтических агентов, сдерживается проблемами получения продуктов со стандартными характеристиками, кроме того, остается неисследованной взаимосвязь между структурными особенностями и биологической активностью. Трудность решения этой проблемы обусловлена чрезвычайной сложностью структуры фукоиданов, которая может меняться в зависимости от вида водоросли, стадии ее развития и места сбора. Наши усилия, направленные на решение этих проблем, позволят решить задачу установления структуры и связать ее с проявлением биологической активности полисахаридов бурых водорослей.

Омега-3 жирные кислоты и здоровье человека. Текущее состояние проблемы. Изменение состава жирных кислот крови у пациентов с различными заболеваниями.

А.В. Есипов¹, Т.А. Горбач²

¹*Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН*

²*Медицинское Объединение, Дальневосточное отделение РАН*

Проблема омега-3 жирных кислот (ЖК) в первую очередь эйкозопентаеновой (ЭПК) и докозагексаеновой (ДГК) и здоровья человека является одной из актуальнейших проблем современной медицины^{1,2}. Препараты этих кислот – одни из самых популярных в мире. В интернете можно найти сотни тысяч посвященных им материалов. Однако многие из них носят рекламный характер и не позволяют составить достоверное представление о проблеме. Внимание науки и практики к омега-3 ЖК сформировалось на рубеже 70-80 годов, когда было показано, что гренландские эскимосы, потребляющие большие количества жиров морских животных, богатых этими кислотами, имеют крайне низкий уровень сердечно-сосудистых и ряда других заболеваний. Интерес мировой науки к данному вопросу продолжает расти и в настоящее время. К сожалению, Россия по объему и уровню исследований омега-3 ЖК значительно отстает от США, Японии и многих других стран.

Приступая к работе, мы, как и большинство других исследователей, планировали применять препараты омега-3 ЖК для лечения и профилактики различных, в первую очередь нейродегенеративных заболеваний. Для этого мы проанализировали более десятка наиболее популярных на российском рынке препаратов омега-3 ЖК и выбрали лучшие из них³. Далее мы проанализировали все методы, используемые для контроля ЖК в крови человека, и выбрали наиболее надежный экспресс-метод, основанный на прямом метилировании ЖК крови с последующим анализом полученных эфиров методом ГЖХ, а также в отдельных случаях ГЖХ-масс-спектрометрией. Было решено использовать разработанную методику в первую очередь для целей клинической диагностики. Мы обратили внимание на то, что в последние годы пониженный уровень ЭПК и ДГК в крови все чаще рассматривается как риск-фактор при сердечно-сосудистых, онкологических, неврологических и других заболеваниях. Когда мы уже начали эту работу, появилась публикация итальянских ученых², посвященная диагностике различных заболеваний в первую очередь по соотношению арахидоновой (АК) и ЭПК, которая подтвердила правильность нашего подхода. Мы исследовали состав ЖК крови более 120 пациентов с различными диагнозами. Кроме того, мы проверили изменения состава ЖК крови под влиянием однократного приема больших доз (50 мл) соевого, льняного масла или продолжительного приема препарата с высоким содержанием ЭПК и ДГК. Прием масел с высоким содержанием линолевой и альфа-линоленовой кислот и препарата омега-3 ЖК в течение месяца не вызвал заметного увеличения концентрации АК, ЭПК и ДГК в крови. Напротив, после приема масел уровень этих кислот снизился. Эти результаты, как и полученные для пациентов с различными заболеваниями, хотя носят предварительный характер, позволяют сделать ряд важных для науки и практики выводов. Во-первых, наши результаты по ряду параметров отличаются от полученных итальянскими исследователями. У наших обследованных в среднем уровень ЭПК и ДГК выше, а соотношения АК-ЭПК ниже, чем у итальянцев. Соотношения АК-ЭПК варьировали в широких пределах (от <2 до >30), их нельзя было четко связать с определенными заболеваниями. Во-вторых, нельзя ожидать для всех пациентов быстрого положительного эффекта при приеме препаратов омега-3 ЖК.

Работа поддержана грантом ДВО РАН по программе «Фундаментальные и прикладные исследования в интересах практической медицины».

Авторы выражают благодарность Васьковскому В.Е. и Светашеву В. И. за теоретическую и практическую помощь в работе.

1. Simopoulos A.P. //Exptl. Biol. Med. 2010. 2010. V. 235. P. 785-795

2. Rizzo A.M., Montorfano G., Negroni M., Berselli P., Corsetto P., Wahle K., Berra V. // Lipids Health Disease. 2010. V. 9. Art. 7.

3. Васьковский В.Е., Горбач Т.А., Есипов А.В., Светашев В.И., Яцкова М.А. // Тихоокеанский мед. журнал. 2010. № 2. С. 16-20.

Структурные модели комплексов анальгетических полипептидов из актинии *H. crispa* с болевым ваниллоидным рецептором TRPV1

Е.А. Зелепуга, В.М. Табакмахер, М.М. Монастырная, Э.П. Козловская
 Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН
 Электронная почта: tabval@yandex.ru

Известно, что ионные каналы TRPV1 являются одним из ключевых компонентов системы болевой рецепции организма, принимая прямое участие в механизмах восприятия и передачи болевого сигнала. Ранее в результате исследования ингибиторов протеиназ актинии *H. crispa* сотрудниками лаборатории химии пептидов ТИБОХ ДВО РАН и лаборатории нейрорегуляции ИБХ РАН им. академиков М. М. Шемякина и Ю. М. Овчинникова было обнаружено, что полипептиды АРНС1, АРНС2 и АРНС3 помимо трипсинингибирующей активности обладают уникальным свойством ингибировать *in vitro* болевой ваниллоидный рецептор TRPV1, а также оказывают анальгетическое действие *in vivo* [1, 2]. Однако механизм купирования болевого синдрома полипептидами из *H. crispa* к настоящему времени не выяснен. Наиболее доступным на сегодня методом установления механизма анальгетического действия полипептидов является компьютерное моделирование.

Нами проведено *in silico* исследование взаимодействия полипептидов АРНС1, АРНС2 и АРНС3 с TRPV1-каналом в открытом и закрытом состоянии. В результате молекулярного докинга сконструирована предполагаемая пространственная структура комплекса (рис. 1) и определен возможный сайт связывания полипептидов с TRPV1-каналом. Анализ поверхности контактов комплексов и аминокислотных последовательностей полипептидов позволил выявить функционально важные для связывания участки молекул.

Полученная модель комплекса АРНС1-TRPV1 не только согласуется с результатами электрофизиологических экспериментов, проведенных ранее [1], но и является первым объяснением модулирующего действия исследуемых полипептидов на TRPV1, приводящего к купированию болевого синдрома.

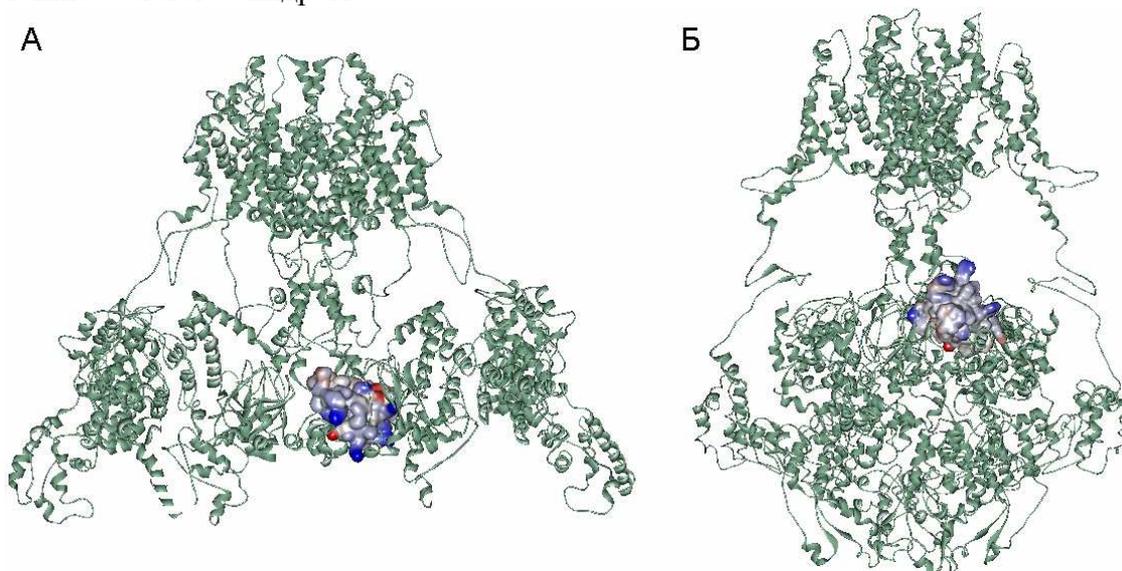


Рисунок 1 – Структурная модель комплекса АРНС1 с TRPV1-каналом в открытом (А) и закрытом (Б) состоянии. Канал представлен в виде ленточной диаграммы, АРНС1 – в виде молекулярной поверхности.

1. Andreev Y.A., Kozlov S.A., Koshelev S.G., Ivanova E.A., Monastyrnaya M.M., Kozlovskaya E.P., Grishin E.V. // J. Biol. Chem. 2008. V. 283. P. 23914-23921.
2. Андреев Я.А., Козлов С.А., Мурашев А.Н., Скобцов Д.И., Дьяченко И.А., Гришин Е.В. // Биоорг. химия. 2009. Т. 35. С. 789-798.

Таксономический состав и распределение массовых видов бентосных фораминифер в бухте Житкова (о. Русский) залива Петра великого

М.В. Зыкова

Дальневосточный государственный университет

Электронная почта: odonata_ins@mail.ru

Фораминиферы – обширная группа простейших, одна из самых высокоорганизованных и своеобразных, представленная на всех широтах Мирового океана от литорали до ультраабиссали. Встречаясь повсеместно, фораминиферы, в то же время, чутко реагируют как естественные изменения, так и на антропогенное воздействие различного характера, особенно в прибрежных экосистемах [1].

Изучение сообществ бентосных фораминифер бухты Житкова (о. Русский) на данном этапе является частью комплексного исследования, проводимого Институтом биологии моря в связи со строительством Тихоокеанского Федерального Университета и научно-образовательного комплекса «Приморский океанариум». Дальнейший мониторинг позволит оценить возможные изменения в составе и распределении бентосных фораминифер в бухте в будущем.

Материалом для данной работы послужили пробы грунта, собранные в ноябре 2008 г. на 9 станциях из поверхностного слоя донных осадков на глубине от 1 до 10 м. Пробы были взяты с участков, над которыми в 2004-2007 г.г. располагались марикультурные установки по выращиванию приморского гребешка, за исключением района южного входного мыса (станции 15).

В бухте Житкова обнаружено 75 видов бентосных фораминифер. Массовыми являются 9 видов, большинство из которых относятся к секреторным формам: *Criboelphidium frigidum* (Cushman, 1933), *Retroelphidium subgranulosum* (Asano, 1938), *Protelphidium asterotuberculatum* (Voortuysen, 1958), *Elphidium advenum depressulum* Cushman, 1933 из семейства Elphidiidae Galloway, 1933, *Buccella frigida* (Cushman, 1922), *Ammonia beccarii* (Linne, 1758) из семейства Discorbidae Ehrenberg, 1838), *Buliminella elegantissima* (d'Orbigny, 1839) - Buliminidae Jones, 1875. Среди агглютинирующих фораминифер виды *Trochammina inflata* (Montagu, 1808) (сем. Trochamminidae Schwager, 1877) и *Eggerella advena* (Cushman, 1922) (сем. Ataxophragmiidae Schwager, 1877) были наиболее многочисленными. Доминирующим в бухте видом оказался *Criboelphidium frigidum*.

Распределение фораминифер в бухте было неравномерным. Число массовых видов на станциях изменялось от 7 до 9. Меньшее число видов (7) отмечено в илах. Плотность поселения массовых видов изменялась от 13,360 до 438,480 тыс. экз./м². Исключением был район южного входного мыса (станция 15), где численность фораминифер превышала 2 млн. экз./м². Доля живых особей фораминифер в общем комплексе изменялась от 7 до 50%. В среднем этот показатель в бухте составлял 27%.

Количественные показатели плотности поселения, высокий процент живых особей в общем комплексе фораминифер свидетельствуют о достаточно благоприятных экологических условиях в бухте Житкова, эксплуатация которой была недолговременной и не очень активной. Однако, видовое разнообразие (75 видов) несколько уступает аналогичному показателю во многих районах залива Петра Великого, где было встречено более 100 видов фораминифер [2].

1. Преображенская, Т.В., Тарасова, Т.С. Донные фораминиферы некоторых районов залива Петра Великого // Распространение и экология современных и ископаемых морских организмов. Владивосток : ДВО АН СССР, 1990. - С. 11-18.

2. Михалевич, В.И. Тип Foraminifera. Протисты: Руководство по зоологии. Ч. I / В.И. Михалевич. - СПб. : Наука, 2000. - Ч.1. - С. 533-623.

Исследование структурно-функциональной организации полигенных и митотических хромосом *Drosophila melanogaster* методом молекулярного комбинга

А.В. Иванкин, Т.Д. Колесникова, С.А. Демаков, О.В. Андреенков, Е.Р. Бильданова,
Н.Г. Андрееenkova, И.Ф. Жимулев

Институт Химической Биологии и Фундаментальной Медицины Сибирское отделение РАН
Отдел молекулярной и клеточной биологии

Электронная почта: anton.ivankin@gmail.com

В изучении структурной и функциональной организации геномов значительное место занимают методы физического картирования фрагментов ДНК и прямой визуализации протекания генетических процессов таких как репликация и транскрипция в конкретных участках индивидуального генома. Поскольку нити ДНК в клетках сильно компактизованы и структурно представлены в виде хромосом, большинство этих методов, как правило, имеют низкую разрешающую способность. Одним из подходов, позволяющим существенно повысить точность картирования, является метод молекулярного комбинга (МК), позволяющий растягивать и выравнивать молекулы ДНК на поверхности обработанного стекла. Этот метод мы предлагаем использовать при исследовании структурно-функциональной организации кластера гистоновых генов (КГГ) 39D-E района в хромосомах слюнных желез и имагинальных дисков *D. melanogaster*. Размер кластера составляет около 500 т.п.н., но в настоящее время определена последовательность только первых 200 т.п.н. Оставшиеся 300 т.п.н. располагаются в участке интеркалярного гетерохроматина и в настоящее время нет данных о последовательности нуклеотидов в этом участке. На данный момент методом молекулярного комбинга мы получили нити ДНК длиной до 400-450 т.п.н., что позволит почти полностью перекрыть КГГ и в дальнейшем исследовать организацию этого района.

Также метод молекулярного комбинга позволяет исследовать скорость движения вилок репликации в хромосомах слюнных желез *D. melanogaster*. По литературным данным¹ известно, что скорости перемещения вилок репликации варьируют в зависимости от видовой принадлежности, типа клетки, времени S-фазы, от ориджина к ориджину и даже между двумя вилками репликации, идущими от одного ориджина. Мы использовали комплексный подход, состоящий из импульсного включения галоген-производных аналогов тимидина *in vitro* в живые слюнные железы с последующим растяжением ДНК на стеклах, а также флуоресцентной гибридизации *in situ* двух ДНК-зондов из одной единицы повтора КГГ. В результате гибридизации ДНК-зондов КГГ мы получили непрерывный ряд точек, в которой каждая пара точек маркировала один повтор кластера (около 4,9 т.п.н.). Подсчитав количество точек в 20 выбранных фрагментах ДНК, суммарной длиной 1160 мкм, мы получили, что 1 микрометр нити ДНК соответствует на препаратах $2,4 \pm 0,1$ т.п.н. Для определения скорости репликации мы измеряли длину треков репликации в микрометрах, которые умножали на $2,4$ т.п.н./мкм и делили на время включения, составлявшее 40 минут. На основании расчетов нами были получены данные о скорости репликации в клетках слюнных желез *D. melanogaster*. Так скорость репликации для линии OregonR составила $0,28 \pm 0,01$ т.п.н./мин ($n=106$). Этот результат хорошо согласуется с литературными данными о репликации ДНК в хромосомах дрозофилы, в том числе и в хромосомах слюнных желез, полученными при помощи автордиографии². Кроме того, мы не выявили отличия в скорости движения репликационной вилки в районе кластера гистоновых генов в слюнных железах личинок дикого типа и мутантов *SuUR* (*Suppressor of UnderReplication*).

1. Jackson D.A., Pombo A. // J Cell Biol. 1998. V. 140. P. 1285-1295.

2. Ananiev E.V., Polukarova L.G., Yurov Y.B. // Chromosoma. 1977. V. 59. №3. P. 259-272.

Получение и первоначальная характеристика нормализованной библиотеки cDNA из 8-ми клеточного зародыша *Cyclops kolensis*

Е.А. Иванкина¹, М.В. Загоскин², Д.В. Муха², И.Ф. Жимулёв¹

¹Отдел молекулярной и клеточной биологии ИХБФМ СО РАН, Новосибирск

²Институт общей генетики РАН, г. Москва

Электронная почта: zotkevich@mcb.nsc.ru

Циклопы - небольшие ракообразные отряда веслоногих раков, в онтогенезе у некоторых представителей циклопов происходит необратимая потеря части генетического материала из генома соматических клеток. Этот процесс получил название диминуции хроматина (ДХ) и на цитологическом уровне заключается в появлении в клетке гранул элиминируемого хроматина во время первых делений дробления. У изучаемого нами вида циклопов - *Cyclops kolensis* Lill. (Марьинский пруд, Воробьёвы горы, Москва) ДХ происходит во время 4-го деления дробления, было показано¹, что количество удаляемой ДНК в ходе ДХ у этого вида составляет 94% от первоначального генома.

До сегодняшнего дня механизм диминуции у циклопов остаётся практически неизученным. Сигрид Беерманн² подробно изучала данный процесс у трёх представителей *Cyclops* на цитологическом уровне и предположила, что удаление фрагментов додиминуционных хромосом происходит путём выпетливания и образования циклических структур на нитях ДНК с дальнейшим их вырезанием. В то же время, какие ферменты участвуют в процессе ДХ у циклопов, как хромосомы сохраняют свою целостность в ходе ДХ и наконец, какие ферменты разрушают диминуционные гранулы остаётся неясным. В нашей работе мы впервые попытались получить полноразмерные библиотеки кДНК на стадии предшествующей диминуции или во время диминуции. Для создания клонотек кДНК мы использовали зародышей на стадии от 8 до 16 клеток. Полноразмерные библиотеки кДНК получали с помощью технологии, предложенной Шмидтом³ с модификациями, а нормализацию библиотек проводили с помощью дуплекс специфической нуклеазы краба (EA001, Евроген, Россия).

На сегодняшний день нами была получена две библиотеки кДНК: ненормализованная и нормализованная. С помощью электрофоретического анализа было показано, что при нормализации библиотеки кДНК с помощью дуплекс-специфической нуклеазы краба происходит исчезновение полос, соответствующих мажорным транскриптам. Часть ненормализованной библиотеки (9 клонов) была отсекувенирована и проанализирована с помощью нуклеотидной базы данных BLAST. При сравнении с нуклеотидными последовательностями из базы данных оказалось, что одна из последовательностей имеет гомологию с 18S РНК разных организмов, остальные последовательности не имеют каких-либо гомологий с базами данных. В дальнейшем мы планируем проанализировать и отсекувенировать полученную нормализованную библиотеку кДНК, которая в будущем может быть использована для поиска генов, участвующих в диминуции хроматина у *C. kolensis*.

3. Гришанин А.К., Бойкова Т.В., Маршак Т.Л., Н.Г. Мельник Н.Г., Наумова Е.Ю., Загоскин М.В., Акифьев А.П., Жимулёв И.Ф. // ДАН. 2006. Т. 408. №5. С. 684-687.
4. Beermann S. // Chromosoma. 1977. V. 60. P. 297-344.
5. Schmidt W.M., Mueller M.W. // Nucleic Acids Res. 1999. V. 27 P. 21. e31.

Зависимость антивирусной активности хитозана от его структуры и способа деполимеризации

А.А. Калитник, В.Н. Давыдова, И.М. Ермак

Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН
Электронная почта: kalitnik85@mail.ru

Хитозан (деацетилированное производное хитина) - нетоксичный, биоразрушаемый, биосовместимый полисахарид - обладает разнообразной биологической активностью, включая антибактериальную, антиопухолевую, иммуностимулирующую и др., что обеспечивает возможность его широкого использования в медицине и фармацевтике.

Известна антивирусная активность хитозана, в частности его способность повышать устойчивость растений к фитопатогенным вирусам. При этом, литературные данные о зависимости антивирусной активности хитозана от его структуры, в частности степени полимеризации и ацетилирования, достаточно противоречивы, что может быть обусловлено разнообразием источников выделения полисахарида и способов его получения.

Целью данной работы было сравнительное изучение антивирусной активности низкомолекулярных образцов хитозана, полученных из одних источников как химической, так и ферментативной деполимеризацией.

Образцы хитозана с молекулярными массами от 130 до 500 кДа и степенью ацетилирования от 1,5 до 25 % были подвергнуты химическому гидролизу, с использованием пероксида водорода при 37 °С. В результате получены производные хитозана с молекулярными массами в пределах 5-17 кДа. Параллельно химической, образец хитозана с молекулярной массой 500 кДа и степенью ацетилирования 25 % подвергали ферментативной деполимеризации с помощью лизоцима при 37 °С, в результате которой были получены фракции с молекулярными массами от 2,5 до 160 кДа.

Для оценки влияния степени ацетилирования на биологические свойства хитозана, из образца с молекулярной массой 130 кДа методом частичного N-ацетилирования были получены производные, содержащие различное количество N-ацетатов.

Проведен сравнительный анализ антивирусной активности полученных низкомолекулярных производных хитозана в отношении вируса табачной мозаики. Было показано, что все образцы хитозанов ингибируют образование локальных некрозов, индуцированных вирусом, на 50 – 90 %. Установлено, что антивирусная активность низкомолекулярных производных хитозана, независимо от способа их получения, выше активности исходных образцов. При этом, продукты химического гидролиза хитозана обладают большей активностью по сравнению с образцами, полученными с использованием лизоцима. Показано, что уменьшение молекулярной массы хитозанов от 500-130 до 15-17 кДа приводит к возрастанию их антивирусной активности в 2-4 раза. В то же время, при дальнейшем снижении молекулярной массы олигосахаридов значительной разницы в их активности не наблюдается.

Установлено, что антивирусная активность низкомолекулярных производных хитозана как природного происхождения, так и химически модифицированных, слабо зависит от степени ацетилирования.

Обнаружение гена силикатеина в стеклянных губках

Д.Г. Каменев^{1,2}, Г.Н. Веремейчик¹, Ю.Н. Шкрыль¹

¹Биолого-почвенный институт, Дальневосточное отделение РАН

²Дальневосточный государственный университет

Электронная почта: salieri.05@mal.ru

В последнее время интенсивно изучаются свойства природных нанокремниевых структур, таких как створки диатомовых водорослей и спикулы губок. Это обусловлено тем, что современные способы получения разнообразных кремниевых структур основаны на использовании экстремальных значений pH и температуры. В биологических объектах биосиликаты определенной формы формируются в условиях окружающей среды.

Особый интерес вызывают спикулы губок класса *Hexactinellida*, обладающие необычными физико-химическими свойствами: спикулы хорошо пропускают свет в видимом и ближнем ИК-диапазоне спектра электромагнитного излучения и, при модуле Юнга материала близким к плавленому кварцу, обладают повышенной гибкостью, в сравнении с промышленными кварцевыми волоконными световодами.

Настоящие спикулы при длине от 5 до 500 мкм представляют собой новый вид природных биоминеральных фотонных кристаллов. В конце XX века было установлено, что процесс биосилификации, ведущий к формированию спикул у губок, контролируют белки-гомологи цистеиновых протеаз, катепсинов, семейства L. Эти белки получили название силикатеины. В каталитическом центре этих белков происходит полимеризация соединений кремния. Было показано, что белок силикатеина, как выделенный из спикулы, так и рекомбинантный, способен конденсировать молекулы предшественника – тетраэтоксисилана (TEOS), с образованием кремниевых наноструктур определенной формы в обычных условиях *in vitro*. Как уже упоминалось, наибольший интерес представляют спикулы стеклянных губок, однако до сих пор не было обнаружено ни одной достоверной формы силикатеинов в представителях класса *Hexactinellida*.

Целью данной работы являлся поиск генов силикатеина в губках класса *Hexactinellida*. В задачи исследования входило: проведение поиска силикатеинов и катепсинов с помощью вырожденных праймеров на кДНК, определение полноразмерных последовательностей полученных генов, филогенетический анализ полученных последовательностей.

С помощью вырожденных праймеров, с которыми ранее были обнаружены 3 формы силикатеина α , 1 форма силикатеина β и 1 форма катепсина у роговой губки *Latrunculia oparinae* был проведен анализ кДНК стеклянных губок. Всего было исследовано 3 вида губок - *Pheronema raphanus* (*Hexactinellida*; *Amphidiscosida*; *Pheronematidae*), *Aulosaccus* sp. и *Bathydorus* sp. (*Hexactinellida*; *Lyssacinosa*; *Rossellidae*). Было проанализировано 98, 201 и 173 клона, соответственно. Было обнаружено всего 3 клона, содержащих ген силикатеина. После определения полноразмерной последовательности и выведения на ее основе аминокислотной структуры, оказалось, что в каталитическом центре белка находится не серин, характерный для силикатеинов, а цистеин, более характерный для катепсинов. Кроме того была обнаружена инсерция 2-х аминокислот вблизи каталитического центра молекулы. Мы предполагаем, что эти особенности могут вызывать изменение функций белка. Филогенетический анализ показал, что последовательность обнаруженного нами силикатеина кластеризуется вместе с обнаруженными ранее представителями этого класса белков морских губок, отдельно от пресноводных губок, а так же отдельно от класса катепсинов. Кроме того, филогенетический анализ показал, что катепсины стеклянных губок формируют отдельную от катепсинов остальных губок группу белков. Полученные нами данные имеют большое значение как для понимания функции силикатеина в спикулогенезе, так и для прослеживания эволюционной судьбы белков силикатеинов/катепсинов в филогенезе губок.

Нелинейная морфометрия игл морских ежей сем. *Strongylocentrotidae*

Каретин Ю.А., Винникова В.В.

Институт биологии моря им.Жирмунского ДВО РАН

Электронная почта: yura15cbx@gmail.com

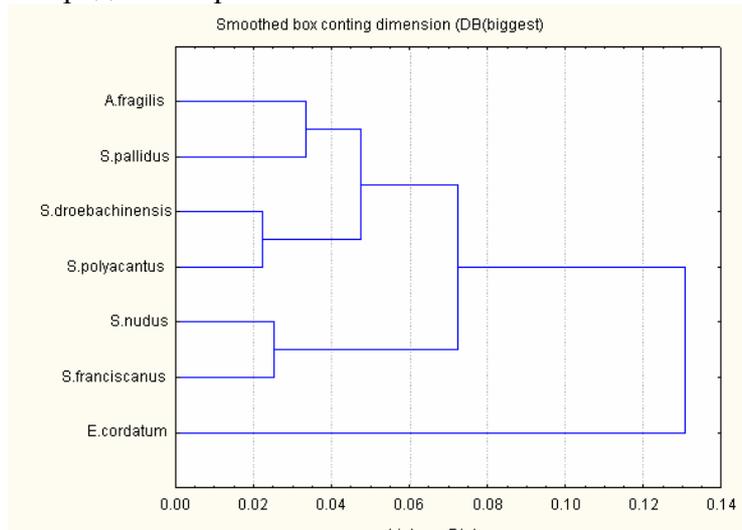
Иглы морских ежей имеют сложную ультратонкую организацию, представляя собой единый кристалл кальцита биогенной природы, погруженный в дермис и покрытый эпидермисом. Историческое освоение морскими ежами различных типов и слоев донного субстрата привело к образованию нескольких эволюционных ветвей морских ежей, обладающих уникальным набором игл с характерной для каждой таксономической группы структурой. У шаровидных морских ежей морфологически выделяется только один тип игл, представленный сердцевинной и продольными радиально расположенными ребрами, наружная поверхность которых у разных видов обладает уникальной микроскульптурой: может быть гладкой, нести многочисленные бугорки и зубчики. Сердцевина иглы состоит из лабиринтовидного стереома, обладающего «неправильной» с точки зрения классической геометрии структурой, сложной для описания. Использование параметров нелинейного анализа для описания поперечного спиала игл шаровидных морских ежей сем. *Strongylocentrotidae* позволит оценить морфологические различия скелета игл у разных видов, понять уровень морфогенетических различий в формировании структур неправильной формы.

В настоящей работе произведена оценка 7 видов правильных морских ежей из семейства *Strongylocentrotidae*, относящихся к родам *Strongylocentrotus*, *Mesocentrotus* и *Alloccentrotus* по следующим нелинейным морфометрическим признакам: средняя массовая размерность, размерность группированного распределения вероятностей, средняя размерность, полученная путём подсчёта квадратов, средняя локальная размерность связанных множеств, средняя локальная фрактальная размерность, лакунарность.

Сравнение ультраструктуры игл *Mesocentrotus nudus* и *M. franciscanus* с остальными представителями рода *Strongylocentrotus* показало, что эти два вида являются наиболее близкими друг к другу (см. рисунок).

Следует отметить, что по морфологии игл *Alloccentrotus fragilis* мало отличается от других видов рода *Strongylocentrotus*. Нелинейный анализ ультраструктуры первичных игл поддерживает правильность выделения рода *Mesocentrotus* Tatarsky et Poltarau, 1993 и не поддерживает самостоятельность рода *Alloccentrotus* Mortensen, 1942.

Сравнение морфологии скелетной структуры игл морских ежей с использованием нелинейных параметров выявило различия в структуре стереома этих видов, что показывает применимость нелинейной геометрии для численного описания скелетных структур правильных морских ежей. Данные нелинейной геометрии игл могут быть использованы для анализа филогенетического родства морских ежей.



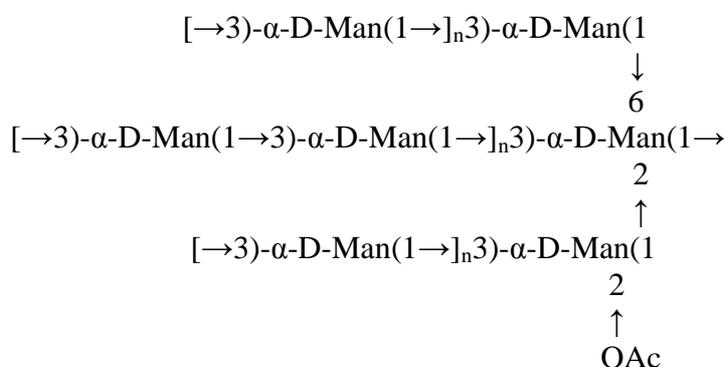
Структурная характеристика О-специфического полисахарида морской бактерии *Halomonas halocynthiae* КММ 1376^T

М.С. Кокоулин, Н.А. Командрова, В.В. Исаков, С.В. Томшич, Л.А. Романенко.
Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН
Электронная почта: maxchem@mail.ru

Морские бактерии представляют значительную часть микробных популяций Мирового океана и, находясь в весьма специфических условиях обитания, отличаются от наземных форм рядом приспособительных особенностей. Прежде всего, это относится к клеточной стенке бактерий, которая играет определяющую роль во взаимодействии микроорганизма с окружающей средой.

Морская бактерия *Halomonas halocynthiae* КММ 1376^T была выделена из жаберной ткани пурпурной асцидии *Halocynthia aurantium*, обитающей в прибрежных водах Японского моря (залив Петра Великого, б. Троица). Особенность штамма КММ 1376^T состоит в уникальной морфологии клеток, которые имеют внешние структуры, напоминающие фимбрии, что обнаружено впервые у неподвижных морских *Halomonas*-подобных бактерий. Клетки бактерий и фимбрии покрыты толстой капсулой [1].

При мягкой кислотной деградации липополисахарида *H. halocynthiae* КММ 1376^T с последующей гель-хроматографией был выделен О-специфический полисахарид, представляющий собой разветвленный маннан. Изучение полисахарида с помощью методов углеводного анализа, ¹H и ¹³C ЯМР спектроскопии, включая двумерные COSY, TOCSY и HSQC эксперименты, позволило нам установить следующую структуру разветвленного повторяющегося звена полисахарида:



Интересно отметить, что из четырех, установленных на данный момент структур О-специфических полисахаридов представителей рода *Halomonas* [2-5], только полисахарид *H. halocynthiae* КММ 1376^T представлен разветвленным маннаном. Вероятно, такая структура О-специфического полисахарида связана с морфологическими особенностями штамма КММ 1376^T и необходима для адаптации и прикрепления бактерий к тканям животного-хозяина.

1. Romanenko L.A., Schumann P., Rohde M., Mikhailov V.V., Stackebrandt E. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2002. - Vol. 52. - P. 1767-1772.
2. de Castro C., Molinaro A., Wallace A., Grant W. D., Parrilli M. // Eur. J. Org. Chem. 2003. P. 1029-1034.
3. de Castro C., Molinaro A., Wallace A., Grant W. D., Parrilli M. // Carbohydr. Res. 2003. Vol.338. P. 567-570.
4. Corsaro M. M., Gambacorta A., Iadonisi A., Lanzetta R., Naldi T., Nicolaus B., Romano I., Ummarino S., Parrilli M. // Eur. J. Org. Chem. 2006. P. 1801-1808.
5. Pieretti G., Nicolaus B., Poli A., Michela Corsaro M., Lanzetta R., Parrilli M. // Carbohydr. Res. 2009. Vol. 344. P. 2051-2055.

Действие гипоосмотического и механического стрессов на адаптивные возможности мидии *Mytilus trossulus*

А.С. Кондрашина¹, Р.С. Попов¹, И.В. Чикаловец²

¹Дальневосточный государственный университет

²Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: ivchik6@mail.ru

Проблема биохимической адаптации живых организмов к постоянно меняющимся условиям внешней среды является одной из узловых в современных экологических исследованиях. Моллюски – существенные составляющие морских донных сообществ, среди них немало экономически важных видов – как объектов промысла и марикультуры. Выживание и рост поселений мидии в значительной степени зависят от способности мидий выдерживать сильные колебания условий окружающей среды. Важно правильно дифференцировать эффекты, индуцированные антропогенными загрязнителями от эффектов естественно-экологических стрессов.

Целью работы было определение адаптивных способностей двустворчатых моллюсков *Mytilus trossulus* к изменению 2 –х факторов внешней среды (солености и механическому встряхиванию). Мидии содержались в аэрируемых аквариумах. Измерение параметров проводилось через 0,5, 6, 12, 24, 48 и 72 часа. В каждом эксперименте исследовалось по 5 животных.

Оценивали жизнеспособность мидий при действии гипоосмотического и механического стрессов (condition index, SOS-тест – выживаемость мидий на воздухе), а также определяли иммунологические показатели, такие как концентрация гемоцитов и активность лектинов. Лектины относятся к гуморальным агглютинирующим факторам, участвующим в защите внутренней среды морских беспозвоночных.

Результаты, полученные к концу эксперимента (72 часа)

Параметр	Контроль	Опыт 1	Опыт 2
Число гемоцитов $\times 10^6 \text{ мл}^{-1}$	0,9 \pm 0,3	2,3 \pm 1,5	1,1 \pm 0,2
Титр ГА log ₂ T	4,8 \pm 0,4	4 \pm 0,5	4,4 \pm 0,5
CI-1	792,5 \pm 249,8	725,3 \pm 185,4	617,1 \pm 116
CI-2	50,0 \pm 24,9	31,4 \pm 11,0	26,7 \pm 3,2
CI-3	60,8 \pm 26,3	42,9 \pm 19,7	36,7 \pm 4,1
LT 50	52	58	37

Опыт 1 – мидии находились в аквариуме с пониженной соленостью (16‰).

Опыт 2 – мидии подвергались механическому встряхиванию в течение 10 мин, после чего помещались в аквариум.

Контроль – мидии не подвергались какому-либо воздействию.

В результате проведенного исследования выявлено, что умеренное уменьшение солености и механический стресс затрагивают иммунную функцию мидий. С одной стороны, это проявляется в общем ухудшении здоровья моллюсков (снижение индексов CI-1, CI-2, CI-3), с другой стороны, вызывает активизацию защитных сил организма, чтобы противостоять неблагоприятным воздействиям (увеличение числа гемоцитов и LT 50 в опыте 2). Гипоосмотический стресс и встряхивание не влияли на активность лектинов. Отмеченное уменьшение лектинной активности в начале эксперимента с последующим ее ростом связано, скорее всего, с адаптацией моллюсков к экспериментальным условиям (вылов, транспортировка, содержание в аквариумах).

Новый лектин из мидии *Mytilus trossulus*

А.С. Кондрашина¹, О.В. Черников², И.В. Чикаловец²

¹Дальневосточный государственный университет

²Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: ivchik6@mail.ru

Лектины - белки неиммуноглобулиновой природы, способные обратимо и избирательно взаимодействовать с углеводами и углеводной частью гликоконъюгатов. Хотя к настоящему времени лектины найдены во многих живых организмах, поиск новых источников остается актуальной задачей, поскольку изучение свойств и функций лектинов вносит вклад в фундаментальную науку об углевод-белковом взаимодействии и открывает новые возможности для медико-биологических исследований.

Ранее в экстракте мантии мидии *Mytilus trossulus* была определена активность лектинов и изучено влияние загрязняющих веществ на их содержание [1].

Целью данной работы было выделение и изучение основных физико-химических свойств лектина из мидии *M. trossulus*. Из экстракта мантии мидии методами аффинной и проникающей гель-хроматографии был выделен лектин (MTL). Молекулярная масса MTL по данным Ds-Na-ПААГ электрофореза составляет приблизительно 18 кДа. Наиболее высокая гемагглютинирующая активность MTL наблюдалась в реакции с трипсинизированными эритроцитами человека группы А. Лектин является Ca²⁺-независимым белком, стабилен в интервале температур 4 - 50° С и полностью теряет активность при нагреве до 60° С в течение 30 минут. Методом ингибирования гемагглютинации показано, что MTL является Gal/GalNAc-специфичным, т.к. его активность ингибируется Gal, GalNAc, фетуином и PSM.

Иммуноферментным методом анализа показана перекрестная реактивность между MTL и Gal/GalNAc-специфичным лектином из мидии *Crenomytilus grayanus*, которая относится к тому же семейству, что и *M. trossulus* [2]. Полученные результаты хорошо согласуются с литературными данными о высокой степени гомологии между лектинами, выделенными из близких видов животных или растений.

Определение углеводной специфичности MTL

Ингибитор	Минимальная ингибирующая концентрация, мМ
Glc (D-глюкоза)	н.и.
Gal (D-галактоза)	13,9
Man (D-манноза)	н.и.
Лактоза	н.и.
Fuc (L-фукоза)	н.и.
GalNAc (N-ацетил-D-галактозамин)	5,6
GlcNAc (N-ацетил-D-глюкозамин)	н.и.
Фетуин	1*
PSM (porcine stomach mucin)	0,5*
Овальбумин	н.и.

н.и. – не ингибирует * концентрация ингибитора в мг/мл

1. Чикаловец И.В., Черников О.В., Шехова Е.А., Молчанова В.И., Лукьянов П.А. // Биология моря. 2010, Т.36. С. 70-74.
2. Belogortseva N.I., Molchanova V.I., Kurika A.V., Skobun A.S., Glazkova V.E. // Comp. Biochem. Physiol. 1998. V. 119C. P. 45-50.

Применение петлевой эндартерэктомии при окклюзионных поражениях подвздошной артерии

А.В. Коротких, И.С. Подсмаженко
Амурская Государственная Медицинская Академия
Электронная почта: ssemioo@rambler.ru

Проблема выбора метода восстановления кровотока при окклюзионных поражениях подвздошно-бедренного сегмента далека от своего решения. Стандартная методика аорто-, подвздошно-бедренного шунтирования синтетическим протезом распространена в большинстве ангиохирургических клиник страны. Несмотря на широкое применение ряд недостатков метода очевидны.

Было прооперировано 48 пациентов с окклюзионным поражением аорто-подвздошно-бедренного сегмента. Средний возраст $60 \pm 3,1$ года. Мужчины составили 40 (80%), женщины – 8 (20%) человек. Хроническая критическая ишемия имела место у 85% пациентов, при этом у более половины 25 (62,5%) – IV по А.В. Покровскому. Основой диагностической программы была ультразвуковая ангиография. Основной причиной был атеросклероз, в сочетании с сахарным диабетом – 6 (12,5%). Изолированное поражение подвздошных артерий имело место у 12 (25%) пациентов, у большинства 36 (75%) имело место сочетание поражения подвздошной артерии с поражением дистального сосудистого русла. Все пациенты оперированы под спинальной или комбинированной спинально-эпидуральной анестезией. Выполнено в общей сложности 72 петлевых эндартерэктомии (у 24 пациентов выполнена билатеральная операция). Полностью кровотока был восстановлен у 37 (77%) пациентов, регресс ишемии – у 35.

Можно сделать вывод, что петлевая эндартерэктомия является эффективным методом восстановления кровотока при синдроме Лериша. Может проводиться у соматически осложненных пациентов из группы риска по проведению стандартного аорто-бедренного шунтирования, и при многоуровневом поражении. Исключает возникновение протезозависимых ранних и поздних осложнений. Наблюдение отдаленных результатов данной технологии позволит определить ее место в арсенале современных сосудистых хирургов.

Химический анализ полисахаридов красной водоросли *Ahnfeltiopsis flabelliformis* (Rhodophyta, Phyllophoraceae)

А.О. Кравченко¹, А.О. Барабанова², И.М. Яковлева³, И.М. Ермак²

¹*Институт химии и прикладной экологии, Дальневосточный государственный университет*

²*Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН*

³*Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского, Дальневосточное отделение РАН*

Электронная почта: kravchenko_25.89@mail.ru

Красные водоросли являются источником уникальных по структуре и физико-химическим свойствам биологически активных веществ. Основными структурными компонентами клеточной стенки красных водорослей являются сульфатированные полисахариды - агар и каррагинан, обладающие уникальной способностью образовывать вязкие растворы и прочные гели, что в целом определяет их широкое практическое использование.

Нами изучены сезонные изменения полисахаридного состава распространенной на Дальнем Востоке красной водоросли *Ahnfeltiopsis flabelliformis* (Phyllophoraceae). Водоросли, представленные репродуктивной формой (карпоспорофиты), были собраны с февраля по декабрь 2009 г. в Амурском заливе, мыс Красный, Японское море. В месте обитания водоросли в течение всего исследуемого периода были измерены такие параметры среды, как температура воды, соленость, интенсивность фотосинтетической активной радиации (ФАР) и УФ радиации.

Согласно результатам анализа, максимальное накопление полисахаридов в талломах водоросли наблюдалось в феврале, мае и октябре при низком уровне ФАР (3,97, 10,83 и 20,12 моль/(м² · день), соответственно) и средних величинах УФ-Б (17,13, 11,72 и 14,98 кДж/(м² · день), соответственно). Напротив, при увеличении дозы ФАР в сентябре до 34,15 моль/(м² · день) количество полисахаридов снижалось в 5 раз. В то же время при увеличении уровня ФАР в 4-5 раз и дозы УФ-Б в 2-3 раза в июле и августе по сравнению с маем количество полисахаридов уменьшалось в 1,5-2 раза. Все полученные данные были обработаны статистически с использованием расчета коэффициента Спирмена, а также анализа множественной регрессии. Установлено, что содержание полисахаридов у *A. flabelliformis* зависит от ФАР и дозы ультрафиолета, тогда как такие параметры условий обитания как соленость и температура воды не оказывают влияние на их количество.

Основными моносахаридами выделенных полисахаридов являются галактоза (Gal) и 3,6-ангидрогалактоза (3,6-AnGal) – структурные единицы как каррагинана, так и агара. Кроме того, в исследуемых фракциях присутствует незначительное количество глюкозы (Glc). Наибольшее количество Gal отмечалось в феврале и октябре, а наименьшее – в начале апреля, что совпадает с периодами максимального и минимального накопления полисахаридов. В то же время, наибольшее содержание 3,6-AnGal наблюдалось в течение летнего периода с максимальным ее количеством в июне при низких значениях уровня ФАР и дозы УФ, а сульфатных групп – с конца апреля по август. Следует отметить, что минимальное содержание 3,6-AnGal в конце апреля соответствует высокому содержанию сульфатных групп. В весенний период и в июне в полисахаридах не обнаружено Glc, в то время как максимальное ее содержание отмечалось в феврале.

Множественный регрессионный анализ показал, что на содержание Gal и 3,6-AnGal с февраля по июнь существенное отрицательное влияние оказывают уровень ФАР и УФ. Кроме того, в этот период содержание 3,6-AnGal положительно коррелировало с температурой воды, а количество сульфатных групп – с ФАР. С июля по декабрь величина УФ положительно влияет на содержание Gal, 3,6-AnGal и сульфатных групп. В то же время, на содержание Gal положительно влияют ФАР и температура воды, а на содержание сульфатных групп температура воды оказывает значительное отрицательное влияние.

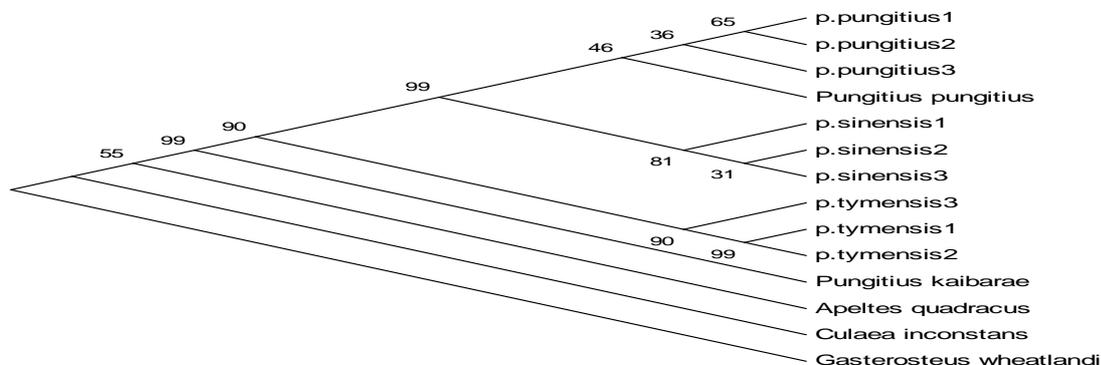
Филогенетические отношения видов рода *Pungitius* в северо-западной части Тихого океана.

Кравченко А.Ю.

Институт биологии моря, Дальневосточное отделение РАН
Электронная почта: *sasha_postbox@mail.ru*

Для молекулярно-генетического анализа использовалась часть туловищной мышцы рыб трех видов *Pungitius sinensis* (р.Киевка, Приморский край, Лазовский район), *P. pungitius* (р. Большая, п. Октябрьский, п-ов Камчатка) и *P. tymensis* (р. Лангры, о. Сахалин).

Последовательности нуклеотидов определяли на автоматическом секвенаторе ABI 3130xl. Построение молекулярно-филогенетических деревьев, с последующей статистической обработкой, осуществляли с помощью MEGA 4.0 (Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S.// *Molecular Biology and Evolution*. 2007. V.24. P.1596-1599.)



На фенограмме представители видов *P. pungitius* и *P. sinensis* не разделяются, образуя почти единый кластер, в свою очередь *P.tymensis* формирует отдельный кластер, что говорит о том, что вид этот генетически более далек от *P. pungitius* и *P. sinensis*. Генетический анализ показал относительно недавнюю дивергенцию между *P. sinensis* и *P. pungitius* и значительно более раннее отделение от них *P.tymensis*, что не согласуется с данными морфологии и эволюционной истории видов рода *Pungitius* (Долганов В.Н., Кравченко А.Ю.// *Известия ТИНРО*. 2009. Т.159. С.204-207.). Объяснить это можно тем, что изоляция *P. pungitius* и *P. sinensis* во время Берингийской трансгрессии была не достаточной, для того, чтоб эти виды не смогли скрещиваться при вторичном контакте во время похолодания конца плиоцена, когда *P. pungitius* был вытеснен из Арктики в северную Пацифику, где и произошла встреча *P. pungitius* и *P. sinensis*.

При проведении исследования был принят коэффициент количества нуклеотидных замен за 1 миллион лет 1,7%, как это рекомендовано для колюшковых рыб (Takahashi H., Takata K., Goto A.// *Ichthyol.Res.*2001.V.48.P.143-154.). При использовании такого коэффициента получается, что дивергенция *P. tymensis* от основного ствола произошла примерно 4 миллиона лет назад. Дивергенция видов *P. pungitius* и *P. sinensis* при таком же способе вычисления произошла совсем недавно, приблизительно 915 тысяч лет назад. Но согласно палеоклиматическим данным дивергенция вида *P. tymensis* вероятнее всего произошла приблизительно 2 миллиона лет назад в конце плиоцена -начале плейстоцена. Именно в этот период наблюдалось сильное похолодание, которое сместило древнюю фауну колюшек далеко на юг (при этом *P. pungitius* образовывал жилые формы) и последующее сильное потепление, когда фауна смещалась севернее, а жилые формы *P. pungitius* остались изолированными в реках и дали, таким образом, начало виду *P. tymensis*. Полученный возраст видов можно объяснить неправильным выбором коэффициента для данной группы рыб. Для согласования генетических данных с морфоэкологическими и палеоклиматическими данными, стоит провести калибровку метода молекулярных часов для колюшковых рыб в сторону увеличения количества эволюционных событий за 1 млн. лет. Данные генетического анализа подтверждают предполагаемую гипотезу, при принятии количества нуклеотидных замен за 1 миллион лет равным 4%.

Гидрохимическая оценка содержания органических веществ в морской воде Амурского залива в прибрежной акватории г. Владивостока

К.С. Кузьменков², Е.В. Левченко¹

¹Институт биологии моря, Дальневосточное отделение РАН

²Дальневосточный государственный университет

Электронная почта: leovit@mail.ru

В работе представлены данные гидрохимических анализов морской воды в трех бухтах, расположенных вдоль западного побережья в черте города Владивостока, проведенные в июле 2009 и 2010 гг. Химико-экологическую оценку качества вод выполняли по таким показателям, как растворенный кислород, биохимическое потребление кислорода (БПК₅), перманганатная окисляемость (ПО), содержание фенолов, нитратов и нитритов.

Гидрохимический анализ, проведенный в 2009 г. выявил следующее: содержание O₂ находилось в пределах 7,4-7,6 мг/л, БПК₅ – 1,5-1,9 мг/л, ПО – 1,3-1,7 мг/л, содержание фенолов – 3,9-4,9 мкг/л. Эти данные соответствуют классу качества воды, определяемому как чистые воды [1, 2].

В 2010 г. БПК₅ осталось в тех же пределах – 1,1-1,7 мг/л, содержание O₂ было ниже, более чем в два раза – 2,5-3,7 мг/л, а значения ПО выросли, более чем в 2 раза – 2,5-4,0 мг/л. Следует отметить, что температурный и световой режим в летний период 2009 и 2010 года имели существенные различия. В частности, t воды в июле 2009 г. была 20 ° (С), а в июле 2010 г. – 24° (С). Причем известно, что растворимость O₂ понижается с повышением температуры, а окисляемость органического вещества возрастает. В целом, по данным гидрохимического анализа качество морской воды в исследуемых районах в 2010 г. можно оценить как чистые воды.

Таким образом, гидрохимический анализ не выявил значительных изменений в содержании органического вещества в исследованных территориальных водах г. Владивостока, несмотря на то, что они подвергаются значительному антропогенному влиянию. Ассимиляционные свойства морских вод, их способность к самоочищению изучены недостаточно [3], но, по-видимому, они достаточно высоки. Следовательно, гидрохимический анализ морской воды необходимо дополнять данными других методов диагностики состояния морской среды, которые позволяют оценить состояние популяций морских организмов.

Список литературы:

4. Романенко В.Д., Оксюк О.П., Жукинский В.Н., Стольберг Ф.В., Лаврик В. И. 1990. Экологическая оценка воздействия гидротехнического строительства на водные объекты. 2000. Киев: Издательство «Наукова Думка». 256 с.
5. Барина С.С., Медведева Л.А., Анисимова О.В. // Биоразнообразие водорослей-индикаторов окружающей среды. Тель-Авив: Изд. дом "Pilies Studio". 2006. 498 с.
6. Огородникова А.А. // Эколого-экономическая оценка воздействия береговых источников загрязнения на природную среду и биоресурсы залива Петра Великого. Владивосток: Издательство ТИНРО-центр. 2001. 193 с.

Сверхкритическая флюидная экстракция как метод извлечения биологически активных веществ из морского сырья

¹Лепешкин Ф.Д., ¹Покровский О.И., ²Дроздов А.Л., ¹Паренаго О.О., ³Лунин В.В.

1 - Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Москва

2 – Институт биологии моря им. А.В. Жирмундского ДВО РАН

3 – Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова

flepeshkin@schag.ru

В докладе рассматриваются преимущества сверхкритических технологий на примере экстракции морского сырья. В результате работы были разработаны методики экстракции низкомолекулярных биологически активных компонентов из различных морских организмов. В качестве объектов исследования были выбраны асцидия пурпурная *Halocynthia aurantium*, плоский морской еж *Scaphechinus mirabilis* и мидия Грея *Crenomytilus grayanus*. Эти животные известны как источники физиологически активных веществ, на основе которых уже созданы, либо разрабатываются лекарственные препараты, либо биологически активные добавки (БАД).

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что СФЭ может служить прекрасным методом извлечения липидных фракций из тканей морских организмов. Приведены сравнительные результаты исследований липидных фракций экстрактов туники асцидии пурпурной, полученных методами СФЭ и традиционной жидкостной экстракции.

Нетривиальное превращение морского алкалоида фаскаплизина в 12-бензоил-(пиридо[1,2-а; 3,4-б'] дииндол)

И.А. Ляхова, М.Е. Жидков, С.В. Дубовицкий
 Дальневосточный государственный университет
 Электронная почта: shuldig18@yandex.ru

Морской алкалоид фаскаплизин, выделенный из губки *Fascaplysinopsis Bergquist sp.*[1] проявляет широкий спектр биологических активностей: противоопухолевую, противомикробную[1], противовирусную[2] и другие. В связи с этим проводится изучение свойств аналогов и производных фаскаплизина, которые могут обладать лучшими фармакологическими свойствами.

Был проведен ряд опытов по ацилированию фаскаплизина в различных условиях. При проведении реакции с хлористым бензоилом было выделено соединение 2 с выходом 30% (схема 1).

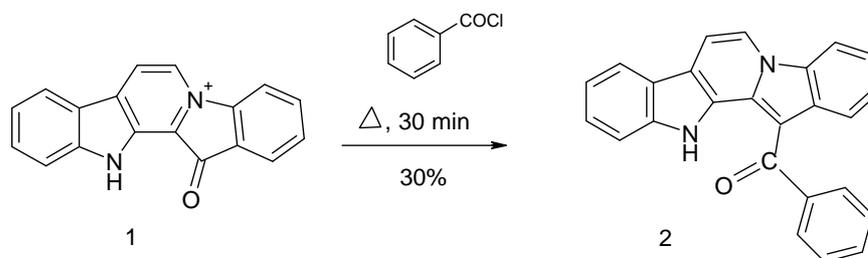


Схема 1.

На основании данных масс-спектрологии и ИК-спектрологии, а так же спектров ЯМР-¹H и ЯМР-¹³C было предположено строение соединения 2 и доказано методами двумерной-ЯМР спектроскопии.

Данное превращение является нетривиальным, так как будучи процессом восстановления фаскаплизина в 12-бензоил-(пиридо[1,2-а; 3,4-б'] дииндол) проходит в отсутствие явного восстановителя в реакционной смеси. Мы предполагаем, что возможный механизм процесса включает в себя последовательное восстановление фаскаплизина в 12-бензоил-(пиридо[1,2-а; 3,4-б'] дииндол) бромид-анионом синтетического фаскаплизина[3]. В настоящее время данный механизм изучается. Данное превращение открывает возможность разработки метода синтеза целого ряда ранее не изученных гомофаскаплизиновых алкалоидов, сходных по строению с 12-бензоил-(пиридо[1,2-а; 3,4-б'] дииндолом)[4].

1. Roll, D. M. Fascaplysin, an Unusual Antimicrobial Pigment from the Marine Sponge *Fascaplysinopsis sp.* / D. M. Roll, C. M. Ireland // J. Org. Chem.- 1988.-№ 8.- P. 3276-3278.
2. Tziveleka, L. A. Natural Products with Anti-HIV Activity from Marine Organisms / L. A. Tziveleka, C. Vagias, V. Roussis // Current Topics in Medicinal Chemistry.- 2003.- V. 3, № 13.- P. 1512-1535.
3. Radchenko, O. S. A Simple and Practical Approach to the Synthesis of the Marine Sponge Pigment Fascaplysin and Related Compounds / O. S. Radchenko, V. L. Novikov, G. B. Elyakov // Tetrahedron Lett.- 1997.-V. 38, № 30.- P. 5339-5342.
4. Comparison of Fascaplysin and Related Alkaloids: A Study of Structures, Cytotoxicities, and Sources / N. L. Segreaves, S. J. Robinson, D. Garcia, S. A. Said, X. Fu, F. J. Schmitz, H. Pietraszkiewicz, F. A. Valeriote, P. Crews // J. Nat. Prod.- 2004.- № 67.- P. 783-792.

Состав и распределение фауны пелагических остракод (OSTRACODA: HALOCYPRIDIDAE) в морях Дюрвиля, Сомова, Росса и прилегающих водах (Антарктика)

Е.Р. Маздыган¹

¹ *Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток 690041; katrin_1633777@mail.ru*

Приведены данные обработки материалов отечественных экспедиций в 50-х – 80-х гг. прошлого столетия в Австрало-Новозеландском секторе Антарктики (л/к «Обь» – 1956, НИС «Менделеев» – 1976, НИС «Дерюгин» – 1980, НИС «Мыс Тихий» – 1981, НИС «Мыс Юнона» – 1981, 1983). Используются для сопоставления обобщённые данные по остракодам опубликованные в работах Диви (Deevey, 1982), Маккензи (McKenzie et al., 1990) и Бенасси (Benassi et al., 1992).

Фауна пелагических остракод моря Дюрвиля в основном сходна с населением акватории моря Сомова, как и расположенные к северу от них воды до 60° ю.ш. Акватории этих морей отграничены на севере Антарктической дивергенцией (АД), представляют обеднённый комплекс фауны Австрало-Новозеландского сектора Южного океана. Если севернее АД их фауна включает также виды, привнесённые из вод субантарктической и тропическо-субтропической структур, то население остракод к югу от АД состоит в основном из типичных антарктических видов. В зоне АД наблюдается таксономическая перестройка и меняется биогеографический облик фауны остракод. В море Сомова севернее и южнее АД максимальные показатели обилия наблюдаются в пределах верхней глубинной водной массы в слое 200–500 м (особенно в 300–400 м), тогда как в море Дюрвиля наибольшие показатели плотности популяций были зарегистрированы на глубинах 100–200 м. Это несоответствие, по-видимому, обусловлено отсутствием должной репрезентативности материала. С увеличением глубины число видов возрастает, образуя максимум в слое 200–500 м. Всего в материалах был идентифицирован для моря Дюрвиля и прилегающих вод 21 вид, для моря Сомова и прилегающих вод – 18. Наиболее массовыми, фоновыми видами в морях Дюрвиля и Сомова являются *Alacia hettacra* (Müller, 1906) и *Austrinoecia isocheira* (Müller, 1906), а обычными — *Boroecia antipoda* (Müller, 1906) и *Obtusoecia antarctica* (Müller, 1906).

Море Росса, расположенное южнее и отличающееся более суровыми условиями, чем вышеупомянутые моря, населено ещё более обеднённым комплексом преимущественно антарктических видов. В материалах было идентифицировано в море Росса и прилегающих водах 13 видов. Наиболее массовым видом здесь является *Alacia belgicae* (Müller, 1906) и *A. isocheira*, формирующие наибольшие скопления на глубинах 200–300 м. Доля в таксоцене *A. hettacra* уменьшается от северной к южной границе моря. В зоне АД (64°–65° ю.ш.) происходят качественные изменения состава и структуры фауны остракод.

Район 64°–65° ю.ш. следует рассматривать северной границей «полярноантарктической зоны».

Benassi G., Naldi M., Mckenzie K. G. // J. Crust. Biol. 1992. V. 12, № 1. P. 68-78.

Deevey G.B. // Biology of the Antarctic Sea, Antarctic Research Series. 1982. V. 32. P. 131-167.

Mckenzie K.G., Benassi G., Naldi M. // Cour. Forsch.-Inst. Serckrnberg. 1990. P. 123-333.

Иммуностимулирующая активность липид-сапонинового наноносителя антигенов на основе кукумариозида А₂-2

А.Н. Мазейка, Э.Я. Костецкий, Н.С. Воробьева, А.В. Цыбульский

¹ Дальневосточный государственный университет

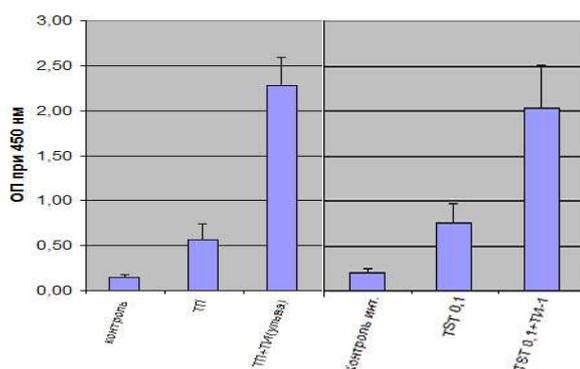
Электронная почта: NikAndrei@inbox.ru

Разработка субъединичных вакцин нового поколения, состоящих из субъединичных антигенов, средств их доставки и эффективных адъювантов, образующих единый наноразмерный комплекс позволяет значительно повысить безопасность и эффективность вакцин, а также управлять ходом развивающегося иммунного ответа. Использование способности природных компонентов биологических мембран к самосборке, сопровождающейся формированием вирусоподобных частиц является удобным инструментом для формирования наноразмерных вакцинных конструкций.

Сверхнизкие дозы тритерпенового гликозида кукумариозида А₂-2 из голотурии *Cucumaria japonica* обладают иммуностимулирующей активностью. Одновременно тритерпеновые гликозиды голотурий обладают выраженной способностью формировать комплексы с холестерином – распространенным компонентом биологических мембран, с этим связан феномен мембранолитической активности, характерной для данных соединений.

С использованием метода трансмиссионной электронной микроскопии мы показали, что из 4 исследованных тритерпеновых гликозидов: кукумариозида А₂-2 (КДА), фрондозид А, голотоксина А₁, кукумариозида G₁, только первый формирует трубчатые наночастицы с холестерином. Дальнейшие исследования показали, что введение фосфатидилхолина и моногалактозилдиацилглицерола (МГДГ) в комплекс КДА-холестерин способствует формированию трубчатых наночастиц, при том МГДГ полнее включается в структуру трубчатых частиц, чем ФХ. С применением метода трансмиссионной электронной микроскопии с энергетической фильтрацией было показано, что оптимальным соотношением трех компонентов комплекса МГДГ ХОЛ и КД является их эквимольное соотношение что соответствует массовому соотношению 2:1:3. Исследования гемолитической активности полученного комплекса показали, что в его ЕД₅₀ составляет 109,2 мкг/мл тогда как у чистого КДА эта величина составляла 0,78 мкг/мл.

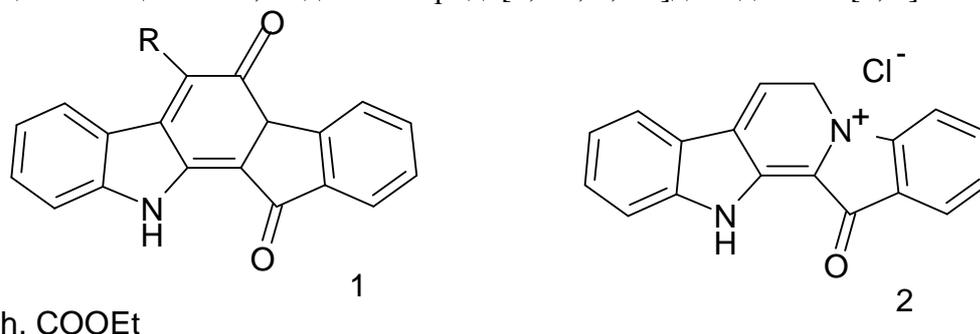
Исследования иммуностимулирующей активности разработанного носителя антигенов (МГДГ:Хол:КДА 2:1:3) проводили на лабораторных мышах линии Balb/c весом 18-21 грамм, путем внутрикожного введения комплекса носитель-антиген в дозе 1 мкг КДА на мышью в объеме 10 мкл. Использование тримерной формы порообразующего белка и термостабильного токсина из *Yersinia pseudotuberculosis* в качестве модельных антигенов в дозе 0,1 мкг на мышью показало, что концентрация антител в сыворотки крови животных, получавших данные антигены в составе носителя превышала таковую величину, полученную при введении чистого белка в 4 и 2,7 раза соответственно.



Конденсация индиго с производными метиленактивных кислот

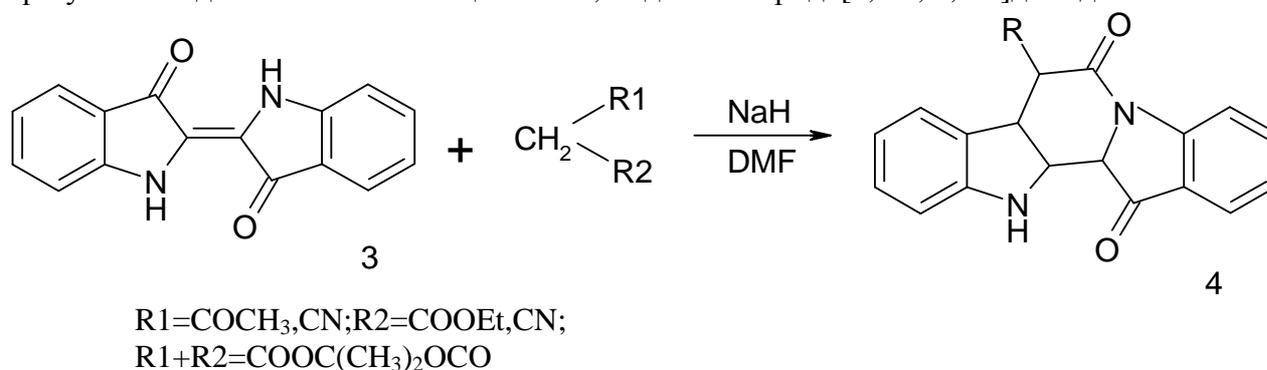
А.В.Малашенкова, А.Н.Андин
 Дальневосточный государственный университет
 Электронная почта: MAVLAI@yandex.ru

Реакции конденсации индиго с метиленактивными соединениями являются достаточно малоизученными. В литературе описаны лишь две работы в этой области. Было показано, что индиго вступает в конденсацию с малоновым и фенилуксусным эфирами при кипячении в нитробензоле в присутствии щелочи, образуя с небольшими выходами соответствующие замещенные 6,13-диоксопиридо[1,2-а; 3,4-б]дииндолы 1 [1, 2].



Между тем пиридо [1,2-а; 3,4-б] дииндольная система является структурным скелетом ряда морских алкалоидов с высокой биологической активностью, например, фаскаплизина 2, выделенного в 1988 г. из губки *Fascaplysinopsis* sp. и обладающего противоопухолевым действием [3]. В связи с этим функциональные производные пиридо[1,2-а;3,4-б]дииндола могут представлять интерес ввиду своей потенциальной биоактивности.

Целью настоящей работы является изучение конденсации индиго с рядом производных метиленактивных кислот: ацетоуксусным и цианоуксусным эфирами, малондинитрилом, кислотой Мельдрума. Было показано, что индиго 3 конденсируется с указанными соединениями при кипячении в ДМФА в присутствии гидрида натрия, образуя с выходами 72-89 % замещенные 6,13-диоксопиридо[1,2-а; 3,4-б]дииндолы 4.



Структура полученных соединений доказана методами ЯМР-, ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии.

Литература

1. Posner T., Pyl G. Ber., 1923, 56, 31.
2. Posner T., Kemper W. Ber., 1924, 57, 1311.
3. Roll D.M., Ireland C.M., Lu H.S.M., Clardy J. J. Org. Chem., 1988, 53, 3276.

Морфо-химическая характеристика вентральных отделов ретикулярной формации продолговатого мозга крысы в норме и при развитии болевой реакции

И.В. Манжуло¹, И.В. Дюйзен²

¹Кафедра клеточной биологии АЭМББТ ДВГУ

²Институт Биологии Моря, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: igor.kov@mail.ru

Вентральные отделы РФ продолговатого мозга считаются одним из важных компонентов системы болевого контроля. Располагаясь в каудальных отделах продолговатого мозга, нейроны этого ядра имеют обширные проекции как с клетками спинного мозга, воспринимающими болевую импульсацию, так и с ядрами ствола, участвующими в модуляции болевого сигнала. Помимо общетеоретической значимости, изучение нейрoхимических основ функционирования данных «антиболевых» центров головного мозга в норме и при развитии болевой реакции позволит приблизиться к разработке и внедрению новых методов лекарственного и аппаратного обезболивания.

Целью настоящего исследования явилось изучение морфо-химической организации вентральных отделов ретикулярной формации продолговатого мозга крысы в норме и при развитии болевой реакции.

Задачи исследования: 1. Изучить морфологическую структуру нейронов латерального и медиального сегментов вентральной ретикулярной формации продолговатого мозга крысы в норме и при развитии экспериментальной воспалительной боли; 2. Гисто- и иммуноцитохимическими методами изучить распределение моноаминергических и NO-ергических нервных клеток и описать динамику нейромедиаторной активности в условиях развития болевого процесса; 3. Выявить наличие и особенности распределение нейрокининовых и каннабиноидных рецепторов на нервных клетках вентральной ретикулярной формации продолговатого мозга крысы; 4. Изучить особенности реакции астроцитов и микроглии на острое болевое воздействие у экспериментальных животных.

Исследование морфо-химической организации нейронов вентральных отделов ретикулярной формации продолговатого мозга крысы проводилось с помощью гистохимических и иммуноцитохимических методов выявления NADPH-диафоразы (NADPH-d), нейрональной формы NO-синтазы (nNOS), тирозин-гидроксилазы (TH), интегрин (OX-42), глиального фибриллярного кислого белка (GFAP), нейрокининовых (SPr) и каннабиноидных (CB-1r) рецепторов.

Было показано, что в вентральном ретикулярном комплексе продолговатого мозга крысы выявляются мелкие ($20\pm 3.1\%$), средние ($49.8\pm 4.49\%$) и крупные ($30.2\pm 2.86\%$) мультиполярные нейроны. В вентральной ретикулярной формации $16,9\pm 0,44\%$ всех нервных клеток ядра являются NO-ергическими, как показано методом гистохимического (на NADPH-диафору) исследования. При этом при развитии болевой реакции число нейронов, экспрессирующих NADPH-диафору, увеличивается до $33,6\pm 2,3\%$ по сравнению с нормой. В норме $17,5\pm 1,5\%$ нейронов содержат тирозин-гидроксилазу – фермент, ответственный за синтез катехоламинергических нейромедиаторов, а при развитии болевой реакции их количество увеличивается до $26,5\pm 2,02\%$ от общего количества нейронов. На нервных клетках вентральных отделов ретикулярной формации продолговатого мозга крысы выявлены нейрокининовые и каннабиноидные рецепторы. Было показано что, при острой боли экспрессия глиального фибриллярного кислого белка (GFAP) увеличивается в 1,9 раза, а плотность распределения OX-42-позитивной микроглии уменьшается в 7,6 раза по сравнению с нормой.

**Противомикробная и гемолитическая активности экстрактов водорослей
Дальневосточных морских акваторий**

Е.А. Мартыяс¹, М.М. Анисимов¹, А.В. Скрипцова²

¹ Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

² Институт биологии и моря, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: martyyas@mail.ru

Дальневосточные морские акватории обладают большим видовым разнообразием водорослей и широким диапазоном изменяющихся внешних факторов, что, безусловно, увеличивает возможность обнаружения новых биологически активных молекул с широким спектром действия.

Были получены 75 экстрактов (общие, гидрофильные и липофильные) из морских водорослей трех отделов (Chlorophyta, Phaeophyta и Rhodophyta). Все полученные экстракты были проверены на наличие противомикробных свойств относительно трех тестовых культур *Candida albicans* КММ 455, *Staphylococcus aureus* ATCC 21027, *Escherichia coli* ATCC 15034, полученных из Коллекции морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН (КММ 644) и гемолитической активности при нормальном и слабокислом значении рН.

Почти все полученные экстракты (90%) ингибировали рост грамположительных бактерий *S. aureus*, значительно меньшая их часть (60%) обладала активностью относительно грамотрицательных бактерий *E. coli*, против *C. albicans* были активны только 57%. Наибольшую способность к разрушению эритроцитов проявили липофильные экстракты морских водорослей 75–85%, в большинстве случаев имела место рН–зависимость.

Chlorophyta. Все экстракты, полученные из зеленых водорослей, были активны против обоих видов бактерий, и 67% ингибировали рост дрожжеподобных грибов, гемолитическую активность проявили только 33% экстрактов зеленых водорослей. Наиболее чувствительными к действию экстрактивных веществ полученных из зеленых водорослей оказались грамположительные бактерии *S. aureus* их рост более всего подавлялся гидрофильной фракцией из *Ulva fenestrata* Ruprecht. В способности разрушать эритроциты этот экстракт оказался не активным.

Phaeophyta. Наибольшую ингибирующую активность в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий проявили общие экстракты из бурых водорослей (93% в обоих случаях), в то время как на дрожжеподобные грибы только 30% от всех экстрактов оказали негативное воздействие. Липофильные вещества из бурых водорослей в большей степени подавляли рост используемых тестовых культур, за исключением *C. albicans*. На рост грибов большее влияние оказали гидрофильные экстракты. Наиболее активными в отношении всех используемых микроорганизмов оказались липофильные фракции из водорослей семейств Laminariaceae и Sargassaceae и гидрофильные из Fucaceae. Гемолитическая активность экстрактов из бурых водорослей имела рН–зависимый характер и в большей степени наблюдалась у экстрактов липофильной природы при слабокислом значении рН среды.

Rhodophyta. Липофильные экстракты из красных водорослей показали наибольшее ингибирующее действие в отношении всех используемых тестовых микроорганизмов. Грамположительные бактерии *S. aureus* на 100% были восприимчивы к их ингибирующему действию, в то время как *E. coli* и *C. albicans* оказались несколько менее чувствительными (67% и 88% соответственно). Наиболее сильную ингибирующую активность в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий проявили вещества липофильной природы, полученные из *Neorhodomela larix* (Turner) Masuda. В обоих случаях ширина зоны ингибирования составила около 80% от ингибирующего действия положительного контрольного образца. Гемолитическая активность также в большей степени принадлежала липофильным экстрактам (78%), некоторые имели рН–зависимость.

В результате проделанной скринговой работы были найдены экстракты, обладающие достаточно высокой противомикробной активностью и рН–зависимым гемолитическим действием.

**Индивидуально-типологические
особенности компонентного состава детей дошкольного возраста**

И. Ю. Марушенко

Амурская Государственная Медицинская Академия

Электронная почта: ivanka_888@mail.ru

В последние годы значительно возрос интерес как отечественных, так и зарубежных ученых к изучению медико-биологических, эколого-географических и социально-экономических вопросов, раскрывающих проблемы физического развития человека. На современном этапе при описании физического развития целесообразно применение индивидуально – типологического подхода с оценкой компонентов массы тела. При этом имеются в виду три важнейшие составляющие тело человека: кости, мышцы и жировая ткань, количественное соотношение которых определяют телосложение человека

Материалы и методы

С целью анализа относительного содержания в организме мышечной, костной и жировой ткани в зависимости от соматотипа нами было обследовано 120 детей (68 мальчиков и 52 девочки) в возрасте от 3 до 7 лет, проживающих в г. Благовещенске. Исследование проводилось на базе детской консультативной поликлиники Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания.

Соматотип определен с помощью индекса Rees – Eisenck и установлены следующие соматотипы: пикнический, нормостенический и астенический. По формулам Матейки подсчитывалась абсолютная масса костной, мышечной и жировой ткани и определялось их отношение к массе тела.

Результаты и обсуждение

Проведенное нами исследование позволило выявить зависимость компонентного состава тела дошкольников от пола и соматотипа ребенка. Анализ состава тела показал, что у мальчиков показатели костного компонента выше, чем у девочек ($p < 0,001$). У девочек с астеническим соматотипом относительное содержание костного компонента самое высокое, самое низкое – у дошкольниц с пикническим соматотипом. У мальчиков отмечена аналогичная зависимость процентного содержания костной ткани от соматотипа детей, но достоверной разницы показателей не выявлено.

Полученные данные свидетельствуют, что у девочек - астеником и нормостеников процентное содержание мышечного компонента выше, чем у мальчиков данных соматотипов ($p < 0,01$ и $p < 0,001$ соответственно). Проведенный внутригрупповой анализ выявил, что самое высокое относительное содержание мышечной ткани у детей с пикническим соматотипом, самое низкое – у дошкольников с астеническим соматотипом ($p < 0,001$).

Анализ данных процентного содержания жировой ткани у обследованных дошкольников показал, что у девочек с нормостеническим и пикническим соматотипом содержание жирового компонента выше, чем у мальчиков ($p < 0,01$ и $p < 0,05$ соответственно); у детей с астеническим соматотипом разницы в зависимости от пола не выявлено. Самое высокое процентное содержание жирового компонента, как у мальчиков, так и у девочек с пикническим соматотипом; самое низкое – у дошкольников с астеническим соматотипом ($p < 0,001$).

Заключение

Таким образом, компонентный состав тела дошкольников имеет зависимость от половой и конституциональной принадлежности ребенка. У девочек большее относительное содержание мышечной и жировой ткани; у мальчиков более выражено развитие костного компонента, что определяет формирование более крепкого костяка уже в дошкольном возрасте. У детей с пикническим соматотипом имеет место преимущественное развитие мышечной и жировой ткани, у дошкольников с астеническим соматотипом более выражен костный компонент. Полученные нами результаты подчеркивают преимущества индивидуально-типологического подхода в оценке показателей роста и развития детей.

**Биологическая активность тритерпеновых гликозидов голотурий
и их комплексов с холестерином**Е.С. Менчинская¹, Д.Л.Аминин²¹Дальневосточный государственный университет,²Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: mega14@inbox.ru

Целью работы являлось исследование биологической активности ряда тритерпеновых гликозидов, выделенных из голотурий *Cucumaria japonica* и *Cucumaria frondosa*, и их комплексов с холестерином. Изучали влияние этих соединений на формирование активных форм кислорода (АФК) и лизосомальную активность в перитонеальных макрофагах мыши.

Кроме того, исследовали влияние этих соединений на мультилекарственную устойчивость (МЛУ) и индукцию апоптоза в клетках асцитной карциномы Эрлиха, а также их гепатопротекторное действие на первичной культуре гепатоцитов мыши. В исследовании применялись методы работы с первичными культурами клеток мыши: спленоцитами, перитонеальными макрофагами, гепатоцитами и асцитной карциномой Эрлиха. Использовали технику молекулярных флуоресцентных зондов и флуоресцентную спектроскопию.

Кукумариозид А₂-2, фрондозид А и их комплексы с холестерином в молярном соотношении 1:2 были получены и любезно предоставлены сотрудниками лаборатории химии морских природных соединений ТИБОХ ДВО РАН.

Показано, что для кукумариозид А₂-2 концентрацией, максимально увеличивающей АФК в клетках, является 0,01 мкг/мл. Комплекс кукумариозид А₂-2 с холестерином проявил наибольшую активность в той же концентрации, что и индивидуальный гликозид. Фрондозид А и его комплекс с холестерином увеличивали формирование АФК в одинаковых концентрациях 0,001 и 0,01 мкг/мл.

Установлено, что все исследуемые соединения повышают лизосомальную активность, в диапазоне концентраций от 0,0001 до 1 мкг/мл. Наблюдается тенденция к проявлению дозозависимых свойств веществ.

Обнаружено, что исследуемые нативные гликозиды и их комплексы с холестерином блокируют Р-гликопротеин, в исследуемом диапазоне концентраций от 0,00001 до 1 мкг/мл, вследствие чего увеличивается количество зонда Calcein в цитоплазме. Наибольшая флуоресценция зонда наблюдалась при действии фрондозид А в концентрации 0,00001 мкг/мл, и соответствовала 75% по отношению к контролю.

С помощью флуоресцентных зондов Hoechst 33342 и Etidium bromide изучено влияние исследуемых веществ на индукцию апоптоза в клетках асцитной карциномы Эрлиха. Показано, что индивидуальный гликозид кукумариозид А₂-2 увеличивает флуоресценцию Hoechst 33342 в концентрациях равных 0,001 и 0,01 мкг/мл. Нативный гликозид фрондозид А вызывает конденсацию хроматина в концентрации 0,0001 мкг/мл. Комплексы гликозидов с холестерином такой активности не проявили.

Исследовано гепатозащитное действие изучаемых соединений. Эксперименты показали, что кукумариозид А₂-2 в концентрации 0,001 мкг/мл незначительно проявил гепатопротекторную активность. Его комплекс с холестерином в концентрациях 0,00001, 0,1 и 1 мкг/мл увеличил выживаемость клеток под действием СС₁₄. Индивидуальный гликозид фрондозид А проявил гепатозащитное действие в концентрации 0,1 мкг/мл. Наибольший эффект в отношении гепатозащитной активности проявил комплекс фрондозид А с холестерином.

Аргинин – участие в метаболизме и регуляции жизненно-важных функций

Моисеенко А.В.

Амурская Государственная Медицинская Академия

Электронная почта: ssemioo@rambler.ru

Аминокислота аргинин – это белковообразующая кислота, заменяемая для взрослых, а для детей является незаменимой. Выполняет в организме различные функции. Одна из главных функций – участие в синтезе креатинина, который в виде кретинфосфата используется как источник энергии для работы мышц человека. Кроме этого, аргинин служит источником оксида азота в организме и предшественником небелковой аминокислоты – орнитина, которая участвует в синтезе мочевины и протеиногенных полиаминов – спермина, спермидина, путресцина.

Аргинин – аминокислота, которая оказывает положительное воздействие на сердечно-сосудистую систему, так как способствует поддержанию нормального уровня холестерина в крови. Высокий уровень холестерина и отложение солей на стенках артерий могут привести к нарушениям деятельности сердечно-сосудистой системы, развитию атеросклероза и других заболеваний сердечно-сосудистой системы. Аргинин способствует также поддержанию нормального уровня артериального давления.

Аргинин – источник окиси азота в организме. Окись азота, которую химически обозначают NO и также называют «эндотелиальным расслабляющим фактором», играет ключевую роль в обеспечении расслабления кровеносных сосудов и тем самым обуздания высокого кровяного давления. Аргинин действует как предшественник окиси азота, который высвобождается из клеток внутренних стенок сосудов и способствует расширению сосудов, предотвращая тем самым образование и развитие атеросклеротических бляшек.

Сам аргинин (а не окись азота, которая из него образуется) снижает уровень холестерина более эффективно, чем любая другая аминокислота. Ежедневные дозы от 6 до 17 г снижают уровень холестерина – ЛПНП, не уменьшая содержания полезного холестерина – ЛПВП, не вызывая при этом побочных эффектов. Кроме того, у людей с высоким уровнем холестерина в крови аргинин способствует здоровой коронарной микроциркуляции, тем самым препятствуя образованию сгустков крови, которые могут вызывать инфаркты и инсульты. Аргинин обеспечивает приток крови к конечностям.

Являясь условно незаменимой аминокислотой для взрослых и полностью незаменимой для детей, аргинин должен поступать в организм только с продуктами питания – творог, морепродукты, куриной мясо, грецкие орехи, печень, шоколад. Не удивительно, что может возникать его недостаток. При дефиците аргинина возникают такие заболевания: устойчивая гипертония, ослабление памяти, нервные и психические расстройства, сахарный диабет, замедление роста и полового созревания, ожирение.

В связи с многообразием процессов, в которых принимает участие аргинин и возможностью развития при недостатке его в организме, отечественные и зарубежные исследователи предлагают различные способы применения аргинина. Он рекомендован в качестве и профилактического средства при заболеваниях сердечно-сосудистой системы, при снижении иммунитета, для активации умственной деятельности

Локализация активности фермента эндо- β -1,3-глюканазы в микроспорогенезе табака

С.Р. Мурсалимов¹

¹ Учреждение Российской академии наук Институт Цитологии и Генетики, Сибирское
Отделение РАН

Электронная почта: mursalimovsr@gmail.com

Выполнен цитохимический анализ локализации активности гидролитического фермента эндо- β -1,3-глюканазы в развивающихся мейоцитах табака на ультраструктурном уровне. Показано, что эндо- β -1,3-глюканаза активно участвует в реорганизации сложной клеточной стенки мейоцитов. Наибольшая активность фермента выявлялась в клеточной стенке и в электронноплотных органеллах – сферосомоподобных везикулах, которые, по всей видимости, являются основными продуцентами эндо- β -1,3-глюканазы в растительной клетке.

Одним из наиболее примечательных этапов в реорганизации клеточной стенки мейоцитов является образование особого типа межклеточных каналов. Известно, что основную роль во взаимодействии растительных клеток выполняют специализированные каналы, пронизывающие клеточную стенку – плазмодесмы. Однако в ходе микроспорогенеза высших растений, клетки могут быть связаны между собой каналами, значительно превосходящими по размеру плазмодесмы и отличными от них по структуре. Такие каналы получили название – цитомиктических, поскольку именно этот тип каналов связан с феноменом цитомиксиса. Установлено, что сферосомоподобные везикулы, выделяющие эндо- β -1,3-глюканазу являются органеллами ответственными за образование цитомиктических каналов в микроспорогенезе табака.

Сферосомоподобные везикулы могут выделять эндо- β -1,3-глюканазу постепенно в окружающее пространство или проникать внутрь клеточной стенки и лопаться, сразу высвобождая большое количество фермента, необходимое для растворения клеточной стенки и формирования цитомиктического канала. Попадание сферосомоподобных везикул внутрь клеточной стенки происходит следующим образом. Первоначально сферосомоподобная везикула проникает внутрь везикулы с каллозой, затем внутри нее переносится к клеточной стенке, после слияния везикулы с каллозой с клеточной стенкой сферосомоподобная везикула оказывается заключенной внутри клеточной стенки и лопается, распространяя вокруг себя фермент, вызывающий растворение клеточной стенки и образование цитомиктического канала.

Образующиеся в результате растворения клеточной стенки цитомиктические каналы имеют размер от 40 до 600 нм. Значительные размеры цитомиктических каналов позволяют перемещаться по ним из одной клетки в другую не только цитоплазме, но и различным органеллам, в том числе пластидам, митохондриям и ядру. Явление межклеточной миграции органелл по цитомиктическим каналам получило название – цитомиксис.

Таким образом, при локализации активности фермента эндо- β -1,3-глюканазы впервые описаны специфические органеллы, обеспечивающие явление цитомиксиса.

Гомоцистеин – новый фактор риска атеросклероза и тромбоза

Неведомская Н.Н.

Амурская Государственная Медицинская Академия

Электронная почта: ssemioo@rambler.ru

Сердечно - сосудистые заболевания являются ведущими причинами потери трудоспособности и смертности населения во всем мире. Установлено, что в патогенезе атеросклероза большую роль играет вялотекущий воспалительный процесс в стенке сосуда, проявляющиеся на всех этапах развития и повреждения атеросклеротической бляшки. Прогрессированию атеросклеротических изменений способствует большое количество различных факторов. Особого внимания заслуживают те факторы, которые поддаются медикаментозной коррекции. Одним из изменяемых факторов риска развития атеросклероза является гомоцистеин.

Целью данной работы является изучение литературных данных по этой проблеме. Результаты исследования последних лет позволили установить, что наличие гипергомоцистеинемии повышает риск развития атеросклероза и тромбоза коронарных, церебральных и периферических артерий независимо от традиционных факторов риска и является прогностическим маркером.

Гомоцистеин – это серосодержащая аминокислота, которая не встречается в естественных белках, потребляемых с пищей, а является промежуточным продуктом обмена аминокислот метионина и цистеина. Нарушения метаболизма гомоцистеина приводят к увеличению содержания гомоцистеина внутри клетки и соответствующему повышению его уровня в плазме крови. Ключевое значение в метаболизме гомоцистеина имеют три фермента: метионинсинтаза, бетаингомоцистеинметилтрансфераза и цистотионин-В-синтаза. Изменение активности этих ферментов прямо связано с нарушением обмена гомоцистеина. Кофакторами этих ферментов являются витамины В6, В12 и фолиевая кислота. Дефицит этих витаминов может привести к нарушениям обмена гомоцистеина и гипергомоцистеинемии.

Повышение концентрации гомоцистеина в плазме крови оказывает повреждающее действие, как на стенку сосудов, так и на систему свертывания крови, создавая условия для атеросклеротических изменений в сосудах и повышению тромбообразования.

Гомоцистеин ускоряет развитие атеросклероза, поскольку: оказывает токсическое действие на эндотелий сосудов, усиливает адгезию тромбоцитов, неблагоприятно воздействует на факторы свертывания крови.

Таким образом, гипергомоцистеинемия является предиктором развития заболеваний сердечно-сосудистой системы, риска возникновения осложнений при этих заболеваниях, а также смертности от развившихся осложнений.

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕКОНСТРУКЦИИ ПО ГЕНУ 2b КУКУМОВИРУСА ОГУРЕЧНОЙ МОЗАИКИ

И.Б. Несмелов, Р.В. Гнутова, В.Ф.Толкач

Биолого-почвенный институт, Российская академия наук,
Дальневосточное отделение, Владивосток
Электронная почта: ibss@eastnet.febras.ru

Популяция дальневосточных российских изолятов CMV довольно многочисленна. Выявлено более 40 изолятов вируса главным образом по биологическим и антигенным свойствам из декоративных, овощных, плодово-ягодных культур и картофеля. В 90-е годы прошлого столетия эти изоляты вируса по результатам иммунохимического анализа эпитопов капсидных белков объединили в обособленный от европейских дальневосточный серотип CMV (Гнутова, 1993). В последние годы активно изучается геном вновь выявленных изолятов CMV из овощных и декоративных культур. В 2008 г. в результате совместной работы с ИСХ биотехнологии РАСХН (г. Москва) по результатам ПЦР-анализа была показана принадлежность CMV, поражающих декоративные растения – *Petunia hybrida* и орхидеи родов *Cattlea spp.* и *Cambria spp.* Оказалось, что они принадлежат по современной международной классификации к подгруппе IB (восточно-азиатские изоляты CMV).

Дальнейшие исследования проводили с 2b геном – супрессором посттрансляционного сайлинсинга, присутствующим в РНК 2 и кодирующим последовательность 2b белка. Белок участвует в транспорте вируса и образовании симптомов. В связи с тем, что он перекрывает своим началом 3'-конец 2a гена, являющегося частью РНК-зависимой-РНК полимеразы, было сделано предположение, что данный ген имеет малую изменчивость, по-этому изучение 2b ген представляет для изучения видового разнообразия дальневосточной российской популяции CMV интерес. Филогенетический анализ первичных последовательностей 2b гена орхидных изолятов CMV, выявил, что они объединяются в самостоятельную группу, отстоящую от зарубежных штаммов CMV (Nesmelov et al., 2009).

Филогенетический анализ первичных последовательностей 2b гена изолятов CMV, у которых отсекинирован 2b ген показал, что они разделяются на 2 группы: овощные (место сбора – Хабаровский край) и декоративные (юг Приморья, орхидеи родов *Cattlea spp.* и *Cambria spp.* завезены из Китая). Отличия в структуре гена изолятов CMV из *Cucumis melon L.* (дыни) и *Cucumis sativus L.* были минимальными. Изолят CMV из *Cucurbita maxima* (тыквы), хотя и объединялся с данным генетическим кластером, но имел определенные отличия не только по биологическим свойствам, но и по отдельным компонентам вирусного генома. Декоративные изоляты из *Zinnia elegans Jac.*, *Nicotiana glauca Link et Otto* и орхидей были связаны друг с другом более слабо. Исключение составили изоляты CMV из орхидей, которые определялись как один изолят.

Таким образом, изоляты CMV, выявленные на территории Дальнего Востока России объединяются в популяцию, достаточно отстоящую от зарубежных изолятов и штаммов CMV, но являющуюся частью группы IB восточно-азиатских изолятов. Причем подгруппу IB составляют исключительно дальневосточные изоляты CMV, тогда как изоляты подгруппы IA распространены повсеместно.

Гистология, нейрохимия и культивирование обкладочных нейроэпителиальных клеток крысы

О.С. Огурцова¹, И.В. Дюйзен²

¹Кафедра клеточной биологии АЭМББТ ДВГУ

²Институт Биологии Моря, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: younola@mail.ru

С начала 90 – х годов XX века стали использовать обкладочные глиальные клетки обонятельного эпителия и обонятельной луковицы, выращиваемые в культуре, для лечения травм спинного мозга и периферических нервов. За последнее время накоплены огромные экспериментальные данные и ограниченный клинический материал, свидетельствующий о принципиальной возможности регенерации в центральной нервной системе и возможном восстановлении её нарушенных функций. Обонятельная луковица содержит собственные стволовые и прогениторные клетки, однако получать эти клетки из мозга человека практически невозможно. Обонятельный эпителий является наиболее доступным для трансплантации материалом и выделение его участков с помощью специальных инструментов не приводит к длительному нарушению обоняния.

Цель настоящего исследования - охарактеризовать гистологию и нейрохимию обкладочных нейроэпителиальных клеток эпителия носовой полости и обонятельных луковиц мозга крысы и выявить особенности их культивирования.

Задачи исследования: 1. С помощью гистологических методов изучить морфологическое строение обонятельного эпителия и обонятельной луковицы крысы; 2. Иммуноцитохимическими и гистохимическими методами исследования изучить локализацию моноаминергических, NO-ергических и GFAP-позитивных клеток обонятельного эпителия и обонятельных луковиц крысы; 3. Дать сравнительную характеристику свойств обкладочных нейроэпителиальных клеток, полученных из обонятельного эпителия, и клеток обонятельных луковиц крысы, в условиях культивирования; 4. Методами иммуноцитохимии охарактеризовать химический фенотип обкладочных нейроэпителиальных клеток и клеток обонятельных луковиц крысы.

Для выполнения поставленных задач использовались гистохимические и иммуноцитохимические методы выявления NADPH-диафоразы (NADPH-d), тирозин-гидроксилазы (TH), глиального фибриллярного кислого белка (GFAP), специфического белка нейрофиламентов аксонов (NF-200) и фактора транскрипции (OLIG-1) на гистологических препаратах и в культуре обкладочных нейроэпителиальных клеток крысы.

Установлено, что обонятельный эпителий крысы включает эпителиальный слой, собственную пластинку слизистой и подслизистую основу. Эпителиальный слой содержит три типа клеток: обонятельные нейросенсорные, опорные и базальные клетки. В собственной пластинке слизистой локализуются обкладочные нейроэпителиальные клетки. Обонятельная луковица включает шесть слоёв: слой обонятельных волокон, клубочковый слой, наружный сетевидный слой, слой тел митральных клеток, внутренний сетевидный, зернистый слой. Было показано, что GFAP-позитивные клетки встречаются в двух слоях обонятельного эпителия: собственной пластинке слизистой и в подслизистой основе. В обонятельной луковице GFAP-позитивные клетки локализуются преимущественно в клубочковом и зернистом слое. Наиболее интенсивное окрашивание на TH – позитивные нервные волокна наблюдается в пределах клубочкового слоя обонятельных луковиц. NADPH-диафораза-позитивная популяция обкладочных нейроэпителиальных клеток выявляется в области базальной мембраны обонятельного эпителия. Установлено, что в условиях культивирования, клетки обонятельного эпителия и обонятельных луковиц пролиферируют, формируют нейросферы и сохраняют способность к нормальной дифференцировки в нейральном и глиальном направлении.

Новые катодные материалы для литиевых источников тока

Д.П. Опра, С.В. Гнеденков, А.К. Цветников, С.Л. Синебрюхов
 Институт химии, Дальневосточное отделение РАН
 Электронная почта: ayacks@mail.ru

В современных первичных литий/фторуглеродных системах $\text{Li}/(\text{CF}_x)_n$ в качестве катодов обычно используются продукты фторирования элементарным фтором нефтяного кокса, графита, углерода, графена и т.д. Полученные таким способом соединения обладают низкой электронной проводимостью ($10^{-12} \div 10^{-15} \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$), а следовательно, литиевые элементы (ЛЭ), созданные на их основе, характеризуются малой мощностью при средних показателях энергоёмкости. Сам же процесс фторирования является весьма затратным и достаточно трудоёмким в исполнении, требует дорогостоящего и сложного оборудования.

Альтернативным способом получения перспективных фторуглеродных катодных материалов может служить метод газодинамической термодеструкции (ГТД) политетрафторэтилена (ПТФЭ), разработанный в лаборатории фторидных материалов Института химии ДВО РАН. ГТД позволяет получить фторуглеродные соединения, характеризующиеся наличием свободного наноразмерного углерода между частицами CF_x . Включение наноуглерода в значительной степени повышает электропроводность фторуглеродных материалов ($10^{-2} \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$). К тому же, эти соединения содержат в своем составе большое количество фтора, что обеспечивает высокую энергоёмкость.

В настоящей работе в качестве катодных материалов были использованы фторуглероды, полученные при температурах 530 °С и 550 °С, обозначенные далее как образцы А (530) и В (550), соответственно.

С помощью сканирующей электронной микроскопии установлено, что данные материалы являются более дисперсными по сравнению с полимонофторидом углерода $(\text{CF}_1)_n$, широко используемым на сегодняшний день в производстве ЛЭ, а следовательно, и активная площадь катодов на их основе больше.

По результатам энергодисперсионного анализа был определен химический состав и рассчитано соотношение F/C для каждого из материалов, исходя из которого, определялась максимальная теоретическая удельная ёмкость и энергоёмкость ЛЭ на их основе.

Для изучения характеристик источников тока были проведены электрохимические исследования с помощью системы Solartron Analytical Celltest System 1470E и анализатора частотного отклика FRA 1455 в диапазоне частот от 10 мГц до 1 МГц. Путем моделирования экспериментальных импедансных спектров с использованием соответствующих эквивалентных электрических схем были оценены параметры исследуемых ЛЭ.

Для определения диапазона разрядных токов были проведены потенциостатические исследования (рис.), характеризующие внедрение катионов лития Li^+ в твердотельные фторуглеродные катоды А (530) и В (550).

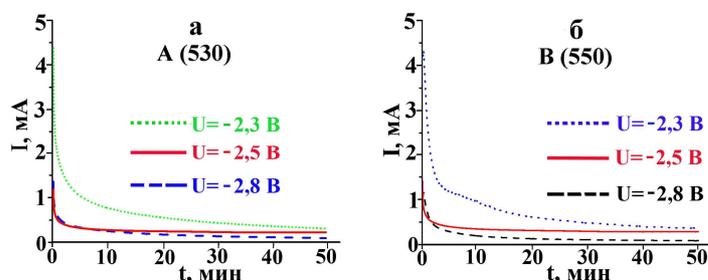


Рисунок. Потенциостатические кривые для ЛЭ с катодом на основе а – А (530) и б – В (550)

Проведенные в настоящей работе исследования показали, что использование фторуглеродных соединений, полученных методом газодинамической термодеструкции политетрафторэтилена, в качестве катодных материалов литиевых источников тока является весьма перспективным.

Взаимодействие тритерпеновых гликозидов голотурий кукумариозида А₂-2 и фрондозид А с иммунокомпетентными и опухолевыми клетками мыши

Пислягин Е.А., Аминин Д.Л.

Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: pislyagin@hotmail.com

Целью настоящей работы являлось исследование взаимодействия тритерпеновых гликозидов голотурий кукумариозида А₂-2 и фрондозид А, с иммунокомпетентными и опухолевыми клетками мыши. В план работы входило исследование связывания этих соединений с биомембранами и их влияние на микровязкость биомембран лимфоцитов и изменение мембранного потенциала перитонеальных макрофагов. Кроме того, проводилось исследование влияния гликозидов на транспорт ионов кальция в иммунокомпетентных клетках и изучение кинетики связывания радиоактивно-меченного кукумариозида А₂-2 с этими клетками.

Особый интерес представляло изучение способности гликозидов индуцировать апоптоз в клетках мышинной карциномы Эрлиха. С этой целью мы исследовали динамику появления маркеров апоптоза, таких как инверсия фосфатидилсерина на внешний монослой биомембран, конденсация и фрагментация хроматина в ядрах и появление активной каспазы-3 в цитоплазме опухолевых клеток.

Для выполнения этих задач применялись современные методические подходы с использованием первичных культур иммунокомпетентных и опухолевых клеток мыши, техники молекулярных флуоресцентных зондов и радиоизотопов, флуоресцентной спектроскопии, компьютерного анализа флуоресцентного изображения клеток, проточной цитофлуориметрии и радиолигандного метода анализа. Кукумариозид А₂-2 и фрондозид А были получены и любезно предоставлены ведущим научным сотрудником лаборатории химии морских природных соединений ТИБОХ ДВО РАН д.х.н. Авиловым С.А.

Показано, что кукумариозид А₂-2 способен встраиваться в биомембраны спленоцитов мышей, что приводит к увеличению микровязкости биомембран. Установлено, что степень изменения микровязкости биомембран находится в прямой зависимости от концентрации добавляемого в инкубационную среду гликозида. Максимальное увеличение микровязкости наблюдается при концентрации гликозида 1 мкМ, а минимальное – при 0.01 мкМ.

Установлено, что взаимодействие кукумариозида А₂-2 и фрондозид А с перитонеальными макрофагами приводит к обратимому изменению мембранного потенциала (МП) клеток и временной деполяризации. Выявлена зависимость изменения МП от концентрации исследуемых соединений.

Обнаружено, что взаимодействие гликозидов с макрофагами сопровождается резким увеличением концентрации Са²⁺ в цитоплазме клеток. Быстрый вход Са²⁺ в цитоплазму является обратимым, амплитуда Са²⁺-сигнала пропорциональна концентрации гликозида, а поступление ионов кальция в клетки происходит из окружающей внешней среды, а не из внутриклеточных депо.

Выявлено, что связывание кукумариозида А₂-2 с перитонеальными макрофагами характеризуется наличием двух мест связывания, а динамика связывания характеризуется двумя константами – высокоафинной и низкоафинной константами диссоциации.

Установлено, что инкубирование гликозидов кукумариозида А₂-2 и фрондозид А с клетками асцитной карциномы Эрлиха приводит к индукции апоптоза этих клеток. Процесс характеризуется появлением в клетках ряда маркеров апоптоза, а именно: инверсии фосфатидилсерина на внешний монослой биомембран клеток и конденсации хроматина в ядрах. Эти явления сопровождаются активацией и выходом каспазы-3 в цитоплазму.

Создание рекомбинантного аттенуированного штамма сальмонеллы для направленной доставки ФНО-альфа к опухолевым клеткам

Д.С. Пирожкова¹, О.Ю. Смирнова¹, А.А. Ильичев¹, Л.И. Карпенко¹, Г.М. Сысоева²

¹ ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, отдел иммунотерапевтических препаратов, Кольцово, Новосибирская область

² Институт медицинской биотехнологии ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, г.Бердск, Новосибирская область

Электронная почта: pirozhkova82@mail.ru

Разработка новых противораковых препаратов, селективно действующих на опухолевые клетки, но при этом слаботоксичных для нормальных тканей, является актуальной задачей современной онкологии. В последние десятилетия в качестве противораковых препаратов активно изучаются микроорганизмы, тропные к опухолям. Генно-модифицированные непатогенные бактерии, такие как аттенуированные штаммы сальмонелл, способны обеспечить прямой противоопухолевый эффект, накапливаясь в опухолях и ингибируя их рост. Кроме того, они могут быть использованы в качестве вектора для доставки цитотоксических молекул к опухоли.

Цель работы:

- Создать аттенуированный рекомбинантный штамм *Salmonella enteritidis* E-23, продуцирующий ФНО-альфа человека для селективной доставки последнего к опухолевым клеткам;
- Изучить влияние полученного штамма на перевиваемые опухоли человека на мышинной модели.

Методы:

При помощи электропорации в штамм *S. enteritidis* E-23 (суа/сгp) введена плазмида pTNF-311Δ, кодирующая ген ФНО-альфа человека. Для подтверждения структуры плазмиды были использованы рестрикционный анализ и секвенирование. Для характеристики полученного белка использовали электрофорез в ПААГ-ДСН и иммуноблоттинг.

Рекомбинантный штамм вводили мышам с асцитной опухолью Эрлиха перректально и оценивали среднюю продолжительность жизни после перевивки опухоли. Для сравнения использовали животных с асцитной опухолью Эрлиха, которым вводили ФНО-альфа внутрибрюшинно, *S. enteritidis* E-23 либо физраствор перректально.

Результаты:

Получен штамм *S. enteritidis* E-23/pTNF-311Δ, продуцирующий ФНО-альфа. Показано, что рекомбинантный штамм продуцирует белок с молекулярной массой 17 кД, соответствующий ФНО-альфа человека. Подлинность полученного белка была подтверждена с помощью иммуноблоттинга с моноклональными антителами к ФНО.

Наименьшая продолжительность жизни наблюдалась у животных, которым вводили перректально физраствор – 11,6 суток, наибольшая – 14, 4 суток – у животных, которым вводили *S. enteritidis* E-23/pTNF-311Δ. Средняя продолжительность жизни в группе, получавшей *S. enteritidis* E-23 – 13,2 суток, в группе, получавшей ФНО-альфа – 14,0 суток. В дальнейшем планируется изучить влияние на продолжительность жизни дозировки рекомбинантной сальмонеллы на той же модели, а также повторить исследования на модели солидной опухоли.

Ионная проводимость твердых электролитов на основе SnF_2

А.Б. Подгорбунский, С.Л. Синебрюхов, Т.И. Усольцева, С.В. Гнеденков
 Институт химии, Дальневосточное отделение РАН
 Электронная почта: defrag_2008@mail.ru

Твердые электролиты на сегодняшний день повсеместно применяются в различных отраслях науки и техники: батарейки, топливные элементы, газовые сенсоры, электрохромные устройства. Основной целью поиска новых материалов и изучения процессов ионпереноса является повышение проводимости - главной характеристики твердых электролитов. Процессы, связанные с ионной проводимостью, носят термоактивационный характер. Если с ростом температуры проводимость повышается, достигая высоких значений ($\sigma=10^{-2}\div 10^{-1}$ См/см), то такие материалы называются суперионными проводниками (СИП).

Высокая проводимость во фтор-проводящих СИП достигается благодаря высокой поляризуемости Sn^{2+} и слабой согласованности ионов F. К примеру, SnF_2 демонстрирует $\sigma\sim 10^{-3}$ См/см при 463 К, а проводимость PbSnF_4 достигает этих значений уже при комнатной температуре.

В данной работе исследовались системы на основе SnF_2 в виде $(1-x)\text{SnF}_2\cdot x\text{MF}$, где $\text{M}=\text{Li}, \text{Na}, \text{K}, \text{Cs}, \text{Rb}$, а $x = 0.05, 0.07, 0.1$ – мольная концентрация соответствующего легирующего элемента. Основная задача состояла в оценке влияния примесных элементов первой группы на проводимость и фазовые переходы чистого SnF_2 . Для ее решения использовался метод рентгенофазового анализа и метод импедансной спектроскопии.

РФА образцов показал, что в процессе синтеза в ряде случаев образуются новые фазы KSn_2F_5 , CsSn_2F_5 , Cs_2SnF_6 , NaSn_2F_5 , которые по данным ИС вносят вклад в общую проводимость соединений.

Из экспериментальных импедансных спектров методом электрических эквивалентных схем были рассчитаны значения собственного сопротивления образцов, пересчитанные затем с учетом геометрии в удельную проводимость σ . Величины энергий активации рассчитывались из прямых участков аррениусовских зависимостей $\sigma=f(T^{-1})$ (см. рисунок) методом наименьших квадратов.

Анализ данных ИС показал, что внедрение элементов Rb, Cs и K приводит к повышению проводимости по сравнению с исходным SnF_2 и к смещению фазового перехода в высокотемпературную область. Проявляется тенденция роста подвижности с увеличением размера внедряемого атома. Образование новых высокопроводящих фаз также благоприятно сказывается на величине σ , и ведет к уменьшению энергий активации.

На основании проделанной работы можно сделать вывод о том, что данные материалы обладают высокой ионной проводимостью и являются перспективными для дальнейшего изучения с целью получения еще более высоких значений проводимости и раскрытия ее

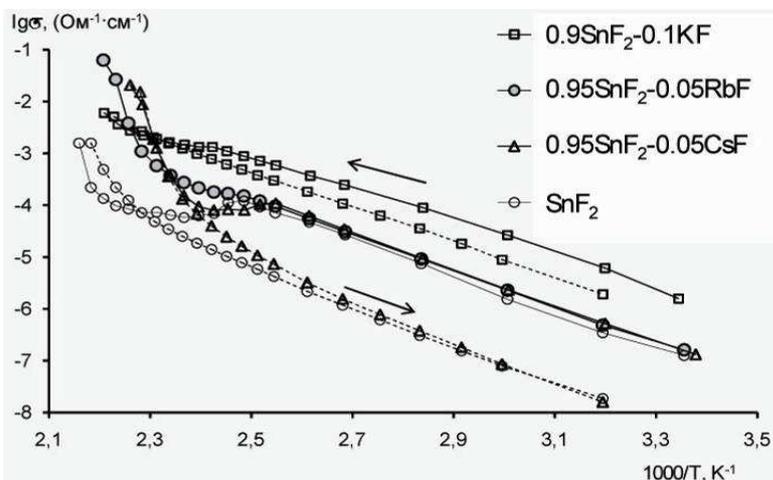


Рисунок. Зависимость проводимости от температуры для чистого SnF_2 и твердых растворов с RbF, CsF и KF в диапазоне температур 299-453 К (сплошная линия – нагрев образца, пунктир – охлаждение)

Влияние каннабиоидов на формирование и течение соматической патологии

Ю.О. Полякова, А.Б. Нестеренко

Амурская Государственная Медицинская Академия

Электронная почта: ssemioo@rambler.ru

Проблема гашишной наркомании является актуальной в наше время, так как одно из первых мест в структуре наркоманий занимают зависимости, вызванные продуктами конопли (анаша, марихуана, план, гашиш).

Заболеваемость данной наркоманией в РФ составляет в среднем 40% от всех наркологических аддикций. Что касается нашего региона, с каждым годом количество больных с зависимостью от каннабиноидов неуклонно возрастает. Степень нарушения функционирования органов и систем пациентов данной группы изучена недостаточно полно.

Целью нашей работы явился анализ соматической патологии больных с зависимостью от каннабиноидов, т. е. установление и изучение влияния уже имеющейся патологии на течение наркомании, а также наблюдение обратного влияния аддикции.

Основным методом исследования явилось анкетирование больных с зависимостью от каннабиноидов. Научно –исследовательская работа проводилась на базе мужского отделения АОПНД. Обследовано 20 больных с зависимостью от каннабиноидов в возрасте от 18 до 40 лет, стаж употребления продуктов конопли составил от 1 до 25 лет.

В ходе систематизации и анализа собранной информации нами были получены следующие данные: подавляющее большинство зависимых госпитализированы повторно, причем более половины респондентов употребляют химически обработанные формы каннабиноидов. У всех пациентов диагностирована токсико - метаболическая энцефалопатия, выраженность которой находится в прямой зависимости от стажа употребления и вида наркотика. Около четверти пациентов имеют в анамнезе ЧМТ различной тяжести, что бесспорно влияет на клиническую картину наркологического заболевания: усугубляет его течение, в том числе значительно ускоряет темпы формирования дефекта личности пациентов, повышает риск возникновения психотических расстройств. Со стороны дыхательной системы чаще выявлялись хронический бронхит и ОРВИ, сердечно-сосудистой – миокардиодистрофия, дисметаболическая кардиомиопатия, нарушения проводимости и сердечного ритма. Нарушения пищеварительной системы у большинства пациентов проявлялись в виде диспептического синдрома, алиментарной диареи, токсического гепатита.

Таким образом, отмечается четкая зависимость выраженности соматических нарушений от употребления различных форм каннабиноидов, степень поражения органов и систем также зависит от стажа употребления наркотика.

**Получение низкомолекулярных производных пектина цитрусовых
и анализ их молекулярных масс**

П.А. Попкова², Е.А. Коленченко¹, В.В. Кумейко¹

¹*Институт биологии моря им.А.В. Жирмунского, Дальневосточное отделение РАН*

²*Дальневосточный государственный университет*

Данная работа посвящена изучению пектина цитрусовых, вещества относящегося к классу полисахаридов и распространенного преимущественно во внеклеточном матриксе плодов цитрусовых. Большой интерес вызывают результаты экспериментальных исследований пектина, свидетельствующие о том, что они способны влиять на пролиферативную способность клеток, причем для низкомолекулярных производных пектина и высокомолекулярных показан различный эффект.

Нами разработан метод получения низкомолекулярных производных пектина при помощи ограниченного кислотного гидролиза. После получения гидролизата, его подвергали ультрафильтрации на мембранах из регенерированной целлюлозы с пределами пропускания 10 кДа и 1 кДа, что позволило разделить препарат на фракции. Определение молекулярной массы продуктов гидролиза проводили при помощи гель-проникающей хроматографии.

Выявлено, что пектины в нейтральных условиях среды могут образовывать межмолекулярные комплексы, которые мешают адекватной оценке их молекулярной массы. Для того, чтобы избежать этого и точно оценивать молекулярную массу полученных олигосахаридов хроматографию проводили в условиях повышенной кислотности, поскольку нами установлено, что при рН 3 низкомолекулярные производные в растворе находятся в виде отдельных молекул.

Данные, полученные после хроматографии показывают, что олигомерные фрагменты имеют массу от 1,3 до 2 кДа, следовательно, содержат в своем составе от 6 до 10 мономерных остатков. По некоторым предварительным литературным данным известно, что антипролиферативной активностью могут обладать низкомолекулярные производные пектина имеющие в своем составе от 6-ти до 18-ти моносахаридных остатков, а значит полученные нами препараты представляют большой интерес для дальнейшего исследования этих свойств пектиновых производных.

Несоогласованность в эволюции рДНК осетровых рыб

К.В. Рожкован¹, Г.Н. Челомина¹¹Биолого-почвенный институт ДВО РАН

Электронная почта: konstantin_rozhkovan@yahoo.com

Рибосомная ДНК (рДНК) является классическим примером геной дупликации, удобным для использования в качестве модели для тестирования теории согласованной эволюции. Примечательной особенностью данного мультигенного семейства является способность всех единиц рДНК к гомогенизации последовательностей внутри генома, вида или популяции. Процесс гомогенизации последовательностей назван согласованной эволюцией и осуществляется при помощи рекомбинации, геной конверсии и неравного кроссинговера. Исследования Северо-Американских представителей осетровых рыб показали, что они являются “исключением” из этого правила, т.е. механизмы согласованной эволюции у них не реализуются в полной мере.

Нами были секвенированы клонированные последовательности с 486 п.н. вставкой 18S рДНК амурского осетра (*Acipenser schrenckii*) и калуги (*Huso dauricus*), гибридов амурского осетра с калугой и сибирским осетром (*A. schrenckii* × *H. dauricus* и *A. schrenckii* × *A. baerii*), а также полная последовательность гена 18S рРНК амурского осетра. Для сравнительного анализа наши данные были объединены с последовательностями из GenBank по 18S рДНК других видов осетровых рыб.

Филогенетические реконструкции, построенные методом ближайшего связывания (NJ) распределили все имеющиеся последовательности в два кластера, условно названные нами “гены и “псевдогены”, поскольку они включали в себя предположительно функциональные и нефункциональные последовательности озерного осетра, соответственно.

Тесты на нуклеотидное и аллельное разнообразие показали, что последовательности кластера “псевдогенов” являются более полиморфными, чем кластер “гены”. Анализ нуклеотидных замен и тесты на нейтральность подтверждают, что “псевдогены” находятся под ослабленным воздействием отбора и обладают более высокой скоростью накопления мутаций, основная часть которых связана с метилированием. Детальное исследование 18S рДНК межродового (*A. schrenckii* × *H. dauricus*) и межвидового (*A. schrenckii* × *A. baerii*) гибридов показало, что гибридизация вносит существенный вклад в повышение нуклеотидного полиморфизма как “генов” так и “псевдогенов” гибридов за счет появления мутаций, отсутствующих у родительских особей. Мы считаем, что такой эффект может быть вызван геной конверсиями и рекомбинацией между локусами 18S рДНК различной функциональной значимости. Действительно, тесты на рекомбинацию показали, что значения параметров рекомбинации в значительной мере выше у гибридов, чем у родительских особей. Кроме того, было выявлено наличие локусов, объединяющих виды, гибриды, родителей с одним из гибридов или с обоими гибридами.

Структурно-функциональный анализ, выполненный с помощью вторичной структуры 18S рРНК американского веслоноса (*Polyodon spathula*), позволил выявить, что “псевдогены” имеют нуклеотидные мутации и инсерции/делеции в ключевых доменах рРНК, что позволяет предполагать потерю “псевдогенами” функциональной активности.

Влияние различных концентраций солей тяжелых металлов на морфологические показатели проростков сои

С.И. Лаврентьева, А.А. Терехова

Благовещенский государственный педагогический университет

Электронная почта: lavsvet@rambler.ru

Из всех известных в мире сельскохозяйственных культур лишь около 20 используются человеком для получения белка и масла. Среди них следует отметить традиционную культуру Дальнего Востока – сою, выращиваемую в Амурской области.

На химический состав семян сои оказывают влияние агроэкологические условия возделывания. При поступлении в растения воздушным (через устьица) или капельным (роса, туман, слабые осадки) путями в состав ферментных систем включается определенная доза тяжелых металлов, что стимулирует метаболические процессы. Внесение в почву удобрений, кислотные дожди, деятельность человека и другие факторы приводят к увеличению в почвах солей тяжелых металлов, влияние которых на растение мало изучено.

Исследование было проведено с целью изучить влияние растворов солей тяжелых металлов различных концентраций на морфологические показатели (МП) проростков сои. Объектом исследования являлся сорт сои Гармония. Эксперимент проводили в июне 2010 года *in vitro* при температуре +24 °С. Закладку опыта проводили по общепринятой методике в модификации Бегуна С.А. [1] с добавлением различной концентрации сульфата меди, в первом опыте; сульфата цинка, во втором; сульфата свинца, в третьем и сульфата алюминия в четвертом опыте. Использовали растворы солей в концентрациях: 0; 0,01; 0,1 и 0,5 г/л. Опыт длился 16 дней до появления второго тройчатого листа. Оценку вегетативной массы выражали в баллах: 0 – отсутствие проростков, 1 – семядоли, 2 – проростки; 3 – начало первого тройчатого листа; 4 – первый тройчатый лист; 5 – второй тройчатый лист.

В ходе исследования установили, что проростки семян сои оказались более адаптивными к высокой концентрации (0,5 г/л) раствора сульфата свинца (табл.). Анализ полученных результатов показал, что при добавлении растворов сульфата цинка и сульфата алюминия различной концентрации проростки сои практически не отличаются по морфологическим показателям от контрольных образцов. Наилучшими морфологическими показателями отличились проростки сои, выросшие на питательной среде с добавлением раствора сульфата меди в концентрации 0,1 г/л. Следует отметить, что повышение концентрации данной соли оказывает губительное воздействие.

Таблица

Морфологические показатели проростков сои, выросших на питательной среде с добавлением различных концентраций солей тяжелых металлов

МП	Соль С, г/л	CuSO ₄				ZnSO ₄				PbSO ₄				Al ₂ (SO ₄) ₃			
		0	0,01	0,1	0,5	0	0,01	0,1	0,5	0	0,01	0,1	0,5	0	0,01	0,1	0,5
вегетативная масса, балл		4	4	5	4	4	4	4	4	4	3	3	4	4	4	4	4
высота проростка, см		14	19	25	15	13	15	17	18	17	15	15	22	13	17	19	14
длина корневой системы, см		15	14	14	10	11	12	14	15	11	13	13	13	14	14	14	12

Влияние различных концентраций растворов солей тяжелых металлов на морфологические показатели проростков сои позволяет в дальнейшем анализировать и отбирать селекционный материал сортов сои устойчивый к стрессовым условиям.

1. Бегун, С.А. Способы приема изучения и отбора эффективности штаммов клубеньковых бактерий сои. Методы аналитической селекции / С.А. Бегун под общим руководством академика РАСХН В.А. Тильба. – Благовещенск: Изд-во «Зея», 2005. – 70 с.

Синтез новых водорастворимых N-ацетилцистеинильных производных 1,2-дителиол-3-тиона(она) – потенциальных биологически активных соединений.

Ю.Е.Сабуцкий¹, В.А.Огурцов²

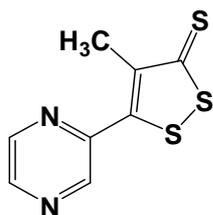
¹Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

²Институт органической химии им. Н.Д.Зелинского РАН

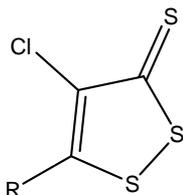
Электронная почта: alixar2006@yandex.ru

1,2-Дителиол-3-тионы - группа пятичленных псевдоароматических соединений с высокой и разнообразной биологической активностью. Сообщалось о выделении 1,2-дителиол-3-тиона и его производных из растений семейства *Brassica Olearacea* [1]. Первые представители соединений этой группы были синтезированы в начале XX-века, но до 80-х годов мало привлекали внимание ученых. В 1985 г фармацевтическая фирма «Авентис» выпустила на рынок препарат «Олтипраз (Oltipraz®)» **1** для лечения шистосоматоза - распространенной глистной инвазии тропических районов Африки и Латинской Америки. Помимо антигельминтного действия Олтипраз проявлял противоопухолевую, антигрибковую активность, ингибировал репликацию вируса ВИЧ-1, защищал печень от цирротических изменений, происходящих при хроническом воздействии афлатоксинов [2].

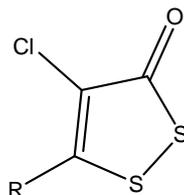
С целью получения новых биологически активных водорастворимых производных 1,2-дителиол-3-тиона мы конъюгировали доступные 4,5-дихлор-1,2-дителиол-3-тион **2** и 4,5-дихлор-1,2-дителиол-3-он **3** с N-ацетил-L-цистеином **4** – ацетилированной формой природной аминокисло-



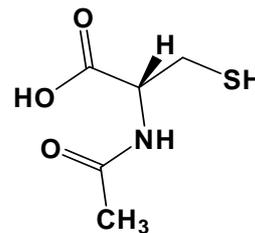
1 Олтипраз



2 R=Cl
5 R=NAC-S (59 %)
6 R=H



3 R=Cl
7 R=NAC-S (82%)



4 N-ацетил-L-цистеин
(NAC-SH)

ты, используемой в медицинской практике при хронических заболеваниях легких, лечения генетических и метаболических нарушений, а также для повышения уровня глутатиона в организме больного. Ранее было показано [3], что в субстратах **2** и **3** атом хлора в положении 5, сопряженном с карбонильной (тиокарбонильной) группой, в условиях щелочного катализа легко замещаются S-, O- и N-нуклеофилами с образованием новых соединений с высокой противоопухолевой активностью *in vitro*.

При конденсации 4,5-дихлор-1,2-дителиол-3-тиона **2** с 1,5 кратным избытком NAC-SH в MeOH, с приемлемым выходом в 55 - 59% было получено цистеинильное производное **5**. Нами установлено, что конденсация дителиолтиона **2** с NAC-SH сопровождается осмолением и дегалоидированием исходного дителиолтиона в **6** (~27%). Конденсация 4,5-дихлор-1,2-дителиол-3-она **3** с NAC-SH напротив, протекала гладко, без осмоления реакционной смеси и дегалоидирования исходного субстрата **3**, и дала продукт нуклеофильного замещения **7** (82%). Можно предположить, что смолообразование и дегалоидирование 4,5-дихлор-1,2-дителиол-3-тиона **2** протекает с участием тиокарбонильной группы дителиолтиона **2**.

Вновь полученные N-ацетилцистеинильные производные **5** и **7** хорошо растворимы в водном растворе NaHCO₃.

1. Jirousec L., Starka L. // Naturwissenschaften. 1958. V. 45. P 386-391.

2. Langouet S., Furge L., Kerriguy N., Nakamura K., Guillouzo A., Guengerich F. // Chem. Res. Toxicol. 2000. V. 13. P. 245-252.

3. Смоленцев А.А. Синтез и свойства функционально замещенных 1,2-дителиолов // автореф. канд. хим. наук / А.А.Смоленцев. – Москва, 2005. – 203 с.

Ультроструктурное исследование аппендикулярии *Oikopleura gracilis* (Tunicata, Chordata) из залива Петра Великого

А.В. Савельева, С.Ш. Даутов

Институт биологии моря, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: an.bystrova@mail.ru

Аппендикулярии принадлежат одному из пяти классов оболочников и насчитывают порядка 100 видов, отнесенных к трем семействам. Они важны в морских пищевых цепях наряду с копеподами и остракодами, так как в мировом океане стоят на одном из первых месте по своей биомассе. Играют значительную роль в потреблении и переноса органики и являются кормовой базой для экономически значимых рыб, таких как сельдь (*Clupea harengus*) и сардина (*Pacific sardine*). Однако, несмотря на это, аппендикулярии остаются мало изученной группой зоопланктона. Еще меньше информации известно об их ультроструктурной организации.

При помощи метода электронной микроскопии мы провели ультроструктурный анализ туловища *Oikopleura gracilis* (представителя семейства Oikopleuridae), уделив внимание желудочно-кишечному тракту (ЖКТ) и репродуктивной системе. Несмотря на упрощенное строение, в туловище аппендикулярии можно выделить три зоны: фаринго-бранхиальную, пищеварительную и репродуктивную. ЖКТ *O. gracilis* подразделяется на отделы: рот, обширная глотка с эндостилем и одной парой жаберных щелей (стигм), пищевод, желудок и задняя кишка, оканчивающаяся анусом. Для каждого из этих отделов характерна своя функция, что проявляется в наличии того или иного клеточного состава. Так, в однослойном столбчатом эпителии желудка присутствуют секреторные бокаловидные клетки, секретирующие пищеварительные ферменты, а так же всасывающие клетки, с хорошо развитым аппаратом микроворсинок. Задняя кишка обладает ярко выраженным рельефом. В ее эпителии можно выделить всасывающие клетки, которые находятся на разных стадиях накопления пищевых частиц, и клетки с ресничками и микроворсинками. Последний тип клеток встречается во всех отделах ЖКТ, доминируя в пищеводе и анусе. Мы предполагаем, что он играет роль в продвижении слизистого пищевого комка, частичном всасывании расщепленной ферментами органики, а также в защите от механического повреждения однослойного эпителия пищевыми частицами, что обеспечивается созданием многочисленными ресничками постоянного потока фильтруемой морской воды в полости ЖКТ. Основная функция формирования непрерывного потока фильтруемой морской воды принадлежит ресничному эпителию пары стигм, располагающихся в передней части глотки и направленных во внешнее пространство слизистого домика – фильтрующего аппарата аппендикулярии. Для клеток ЖКТ характерна мультифункциональность, в нем нет очагов пролиферации, что, вероятно, объясняется постоянством клеточного состава – эutelией, присущей этим животным в целом.

Репродуктивная система содержит мужскую и женскую гонады. Семенник подразделен на две доли, отделенные между собой однослойным гонадным эпителием. Половозрелый семенник содержит многочисленные сперматиды, плотно занимающие весь объем мужской гонады. В семеннике не обнаружено семенных канальцев, вспомогательных клеток Сертолли, а так же спермодукта или семявыводного протока. Сперматиды, попарно соединенные цитоплазматическими мостиками, занимают весь объем семенника и находятся на одной стадии созревания. Сперматозоиды имеют головку, шейку и один хвостик. Яичник так же покрыт однослойным гонадным эпителием. Мейотические ядра оогониев окружены синцитием, образованным из вспомогательных полиплоидных клеток-нянек. Мы предполагаем, что цитоплазма синцития взаимодействует с оогониями, контролируя их синхронное созревание посредством сигнальных молекул, находящихся в цитоплазме клеток-нянек. Такая необычная организация яичника, (которая в природе встречается только у фруктовой мушки – дрозофилы), является еще одним проявлением эutelии, а так же следствием экстремально короткого жизненного цикла, протекающего около 6 дней при $t\ 20^{\circ}\text{C}$. Исходя из полученных данных, следует, что аппендикулярии, и исследованный вид, в частности, проявляют удивительные черты узкой специализации, благодаря которой они адаптировались к обитанию в пелагиале всех океанов, прочно закрепив за собой звание космополитов.

Новая методика получения нанокompозитных и полимерных пленок на основе хитозана

С.А. Сарин¹, В.Е. Силантьев¹, И.В. Постнова¹, Ю.А. Щипунов¹

¹Институт Химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: zveroboy82@gmail.com

Хитозан – природный полисахарид, производный от хитина, который занимает второе место после целлюлозы по распространённости в природе. Хитозан является плёнообразующим материалом, проявляя, при этом антисептические, ранозаживляющие, сорбционные свойства. Биосовместимость и отсутствие токсичности позволяет использовать материалы на его основе в фармакологии, медицине, биоинженерии и косметике [1]. Пленки на основе хитозана, благодаря ионным связям, обладают повышенной механической прочностью, что является немаловажным фактором при применении хитозана в различных производствах [2].

Авторами была разработана методика формирования нанокompозитных и полимерных пленок на основе хитозана. Нанокompозитные пленки формировались на основе хитозана с Сапонитом (Ch-Sap) - это глины группы монтмориллонитов состоящие из наноразмерных, заряженных частиц [3]. Полимерные пленки создавались на основе полиэлектролитных комплексов (ПЭК) хитозана с ксантаном (Ch-Xan) – природный полисахарид, продукт жизнедеятельности микроорганизмов *Xanthomonas campestris*[4]. Методика заключается в формировании ПЭК хитозана с заряженными частицами глины или с заряженными молекулами ксантана. Электростатические взаимодействия между частицами регулируются зарядом макромолекул хитозана за счёт постепенного подкисления водного раствора. Такой подход приводит к желированию водного раствора хитозана и, при этом, не возникает фазового расслоения [5]. После формирования, гидрогель высушивается в закрытой пластиковой форме до постоянного веса.

Целью данной работы являлось разработка новой методики получения нанокompозитных и полимерных пленок на основе хитозана, исследование механических свойств и морфологии в зависимости от концентраций компонент системы.

Изучение набухания пленок в водной среде позволило определить оптимальные условия их формирования в зависимости от соотношения концентраций Ch-Sap в нанокompозитных пленках и Ch-Xan в полимерных пленках. Выявлены минимальные значения степеней набухания (α , %) пленок. Присутствие минимумов в кривой степени набухания свидетельствует об отсутствии свободных заряженных групп в системе и позволяет сделать вывод, что при формировании пленок возникло наибольшее количество ионных связей.

Изучение морфологии систем Ch-Sap показало, что пространственная структура состоит из крупноразмерных модифицированных пластин до 10 мкм длиной и до 0,2 мкм толщиной. Морфология систем Ch-Xan – уплотненная аморфная пространственная структура.

Механические и термические свойства нанокompозитных и полимерных пленок были исследованы методом динамического механического анализа. Изучение термических свойств показало, что системы Ch-Sap, имеют ярко выраженный температурный переход стеклования T_g , а так же статистически устойчивое значение модуля плато. Такое термическое поведение нанокompозитов связано с возникновением высокоупорядоченной наноразмерной пространственной структурой. Изучение системы Ch-Xan показало отсутствие выраженного T_g , что обусловлено аморфной природой пространственной структуры.

1. Kumar M.N.V.R., Muzzarelli R.A.A., Muzzarelli C., Sashiwa H., Domb A.J., // Chem. Reviews. 2004. V.104. P. 6017-6084.
2. Гальбрайт Л.С. // Соросовский образовательный журнал. V.1 P. 51-56
3. Shchipunov Y.A., Ivanova N.A., Silant'ev V.E. // Green Chemistry. 2009. V11. P. 1758-1761.
4. Shchipunov Y.A., Ivanova N.A., Sarin S.A. // Mendeleev Commun. 2009. V.19. P. 149-151.
5. Shchipunov Y.A., Sarin S.A., Il Kim and Chang-Sik Ha // Green Chemistry. 2010. V.12. P. 1187–1195.

**Новая термолабильная щелочная фосфатаза из яйцеклеток морского ежа
*Strongylocentrotus intermedius***

А.В. Сейткалиева¹, Н.И. Мензорова², В.А. Рассказов²

¹Дальневосточный государственный университет

²Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: sasha0788@inbox.ru

Щелочные фосфатазы (ЩФ, КФ 3.1.3.1) широко распространены в природе. Они являются цинк-содержащими металлоферментами, относятся к классу гидролаз и катализируют реакцию щелочного гидролиза эфирных связей большого числа различных фосфомоноэфиров.

Ранее в лаборатории морской биохимии ТИБОХ ДВО РАН было показано, что ЩФ яйцеклеток морского ежа *Strongylocentrotus intermedius* обладает уникальным свойством сохранять ферментативную активность и гидролизовать субстрат в растворах с высокой ионной силой, в частности, в морской воде. С использованием фосфатазы из гомогената яйцеклеток морского ежа нами была разработана ферментативная тест-система для оценки качества морских и пресных вод. Целью данной работы являлось получение высокоочищенного препарата ЩФ и изучение ее основных свойств.

Известно, что ЩФ в различных органах животных организмов связаны с клеточной мембраной и/или находятся в цитоплазме клеток. Поэтому экстракцию фермента из яйцеклеток проводили двумя способами: буферным раствором и водным *n*-бутанолом. При гель-хроматографии на Sephacryl-200-HR каждого из экстрактов было получено по 2 пика фосфатазной активности, отличающихся по молекулярной массе. Фосфатаза, экстрагированная бутанолом, обладала значительно меньшей активностью и ингибировалась морской водой, в отличие от фермента из цитоплазмы. Таким образом, ЩФ экстрагировали из яйцеклеток буферным раствором с последующей хроматографией на ДЕАЕ-целлюлозе и фенил-сефарозе, концентрировании на мембране 30 кДа и гель-хроматографией на Sephacryl-100-HR.

По данным гель-фильтрации и SDS PAAG электрофорезу выделенный фермент является гомодимером с молекулярной массой 145 кДа. Показано, что фермент стабилен в диапазоне pH от 6,5 до 9, а его оптимум pH находится в интервале от 8,5 до 9,5. ЩФ является термолабильным белком, так как полное ингибирование фермента происходит уже при 45°C (15 мин), а температурный оптимум составляет 30°C. Ионы Mg²⁺ и Ca²⁺ увеличивают стабильность и активность фосфатазы, то есть исследуемый фермент является металлозависимым. Показано, что присутствие ионов одновалентных металлов (NaCl) в концентрациях от 0,05 до 0,6 М увеличивают активность фермента. Природная и искусственная морская вода с соленостью от 16‰ до 32‰ (0,45 М NaCl) также не влияют на максимальный уровень активности. Показано, что добавление дитиотрейтола в исходный гомогенат яйцеклеток увеличивает активность ЩФ в несколько раз. Фермент полностью теряет активность в присутствии комплексообразователя ЭДТА (2 мМ), ингибитора сериновых протеиназ фенилметилсульфонилфлюорида (0,3 мМ), тиоловых реагентов *N*-этилмалеимида (25 мкМ) и *p*-хлормеркурийбензоата (0,7 мкМ), а также ионов тяжелых металлов Pb²⁺ (0,4 мкМ), Cu²⁺ и Cd²⁺ (0,6 мкМ). Исследование субстратной специфичности ЩФ показало, что максимальная активность фермента проявляется при гидролизе 5'-NMP (5'-AMP, 5'-UMP, 5'-GMP, 5'-CMP), гидролиз 4-нитрофенилфосфата проходил с меньшей эффективностью, а у α -глицерофосфата, 2',3'-GMP и 3',5'-AMP скорость отщепления фосфата была еще меньше.

Таким образом, показано, что исследуемый фермент является термолабильной металлозависимой щелочной фосфатазой, сохраняющей максимальную активность в растворах с высокой ионной силой и проявляющей высокую чувствительность к различным

Новые методы в лечении грыж: лапароскопическая герниопластика

А.О. Сидельников, С.И. Пискун

Амурская Государственная Медицинская Академия

Электронная почта: ssemioo@rambler.ru

Грыжа (hernia), выход внутренних органов или глубоких тканей из полостей, нормально занимаемых ими, под кожу или в межмышечную клетчатку без нарушения целостности покровов.

Лапароскопическая герниопластика (герниопластика: hernia – грыжа) - ненапряжной метод при котором грыжевой дефект пахового канала укрывается синтетическим протезом, введенным через небольшие проколы вне пахового канала с использованием видеохирургического оборудования

Пластика пахового канала с использованием синтетических протезов называется "ненапряжной", при этом грыжевой дефект укрывается специальной заплатой, выполненной из синтетического материала. Протез выполнен в виде сетки различной конфигурации. При помещении его в тканях организма происходит образование соединительной ткани и прорастание элементов сетки собственными тканями организма. При этом образуется прочное укрепление на пути возможного рецидива грыжи. Отличить протез от собственных тканей организма в отдаленном послеоперационном периоде практически невозможно.

Лапароскопическое вмешательство выполняется с использованием трех троакаров диаметром 5, 10 и 12 мм, один из которых вводится в зоне пупка, два других – в нижней части живота. Инструментами иссекается грыжевой мешок, его содержимое вправляется в брюшную полость, а на слабое место («грыжевые ворота») накладывается плетеная сетка из инертного материала полипропилена. Сетка подшивается нитями или, чаще, фиксируется титановыми скобками при помощи лапароскопического сшивающего аппарата. Сетка становится каркасом, на котором в дальнейшем возникают собственные ткани организма, дополнительно укрепляя это слабое место. Троакарные раны 5 мм заклеивают пластырем, 10 и 12 мм - ушивают рассасывающимися нитями, швы не снимают. Операция выполняется под наркозом.

Преимущества лапароскопического способа выполнения операции по поводу грыжи перед традиционным: меньше болевой синдром после операции, меньше пребывание в больнице (1-3 и 5-7 дней), нет предпосылок к нарушению половой функции у мужчин, поскольку не сдавливается семенной канатик, раньше происходит восстановление организма (1 и 4 недели), возможность во время операции произвести визуальную диагностику состояния внутренних органов, меньше возможность возникновения рецидивов (мнения авторов в цифрах разнятся).

К недостаткам лапароскопической герниопластики перед открытой методикой следует отнести следующее: высокая стоимость расходных материалов, выполнение ее под общей анестезией, лапароскопия является полостной операцией, тогда как при открытом варианте грыжесечения брюшная полость может не вскрываться, длительность операции на 15-30 минут дольше.

**Получение мутантных OmpF поринов
Yersinia pseudotuberculosis с делециями наружных петель**

О.В. Сидорова, Д.К. Чистюлин, М.П. Исаева, О.Д. Новикова

¹*Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН*
Электронная почта olga_ximik@mail.ru

Ранее в Лаборатории морской биохимии ТИБОХ ДВО РАН был клонирован и экспрессирован OmpF порин возбудителя псевдотуберкулёза *Yersinia pseudotuberculosis*, а в Лаборатории молекулярных основ антибактериального иммунитета ТИБОХ ДВО РАН были исследованы его структурно-функциональная организация и иммунобиологические свойства. Изменяя структуру белка с помощью сайт-направленного мутагенеза и наблюдая за изменением его свойств, можно делать выводы о функциональной значимости тех или иных участков белковой молекулы. Что касается поринов, наиболее интересными представляются исследования участков внешних петель, которые, по литературным данным, ответственны за стабилизацию структуры и антигенные свойства этих белков, а также участвуют в модуляции проводимости пориновых каналов.

Для получения мутантных конструкций, несущих *ompF* ген с делециями петель, была использована система «QuikChange site-directed mutagenesis» (Stratagene, США) с применением TurboTaq полимеразы и мутантных праймеров.

С целью оптимизации процесса получения мутантных рекомбинантных OmpF поринов были опробованы 2 различных подхода.

Суть первого метода получения рекомбинантного мутантного белка состояла в следующем:

1. Трансформация полученной мутантной плазмидной ДНК в компетентные клетки Top10;
2. Поиск колоний, содержащих мутантные плазмиды, с помощью ПЦР;
3. Выделение плазмидной ДНК из отобранных колоний;
4. Трансформация мутантной плазмидной ДНК в экспрессионный штамм BL21(DE3);
5. Экспрессия мутантного белка.
6. Секвенирование «функциональных» плазмид.

Суть альтернативного метода получения рекомбинантного белка состояла в уменьшении количества этапов и заключалась в следующем:

1. Трансформация полученной после мутагенеза плазмидной ДНК в экспрессионный штамм Rosetta;
2. Экспрессия белка с целью отбора колоний, экспрессирующих мутантный целевой порин;
3. Проведение ПЦР отобранных «рабочих» колоний с праймерами T7;
4. Секвенирование ПЦР-продукта.

Показано, что функциональные колонии, экспрессирующие мутантные белки, имеются в экспрессионных конструкциях, полученных обоими методами. Это позволяет считать оба способа эффективными и результативными, но второй метод существенно экономит время и уменьшает количество экспериментов, необходимых для получения целевых мутантных белков.

Работа поддержана грантом ДВО РАН «Конструирование и структурно-функциональное исследование мутантных OmpF поринов наружной мембраны *Yersinia pseudotuberculosis*» по разделу «Фундаментальные исследования молодых ученых».

Формирование и исследование нанокompозитных плёнок на основе хитозана и наночастиц глины

В.Е. Силантьев¹, С.А. Сарин¹, И.В. Постнова¹, Ю.А. Щипунов¹

¹*Институт Химии, Дальневосточное отделение РАН*

Электронная почта: zveroboy82@gmail.com

Хитозан – продукт дезацетилирования природного полисахарида хитина, занимающего второе место после целлюлозы по распространённости в природе. Хитозан является прекрасным плёнообразующим материалом, проявляя разнообразные виды биологической активности. Отсутствие токсичности позволяет использовать материалы на его основе в фармакологии, медицине, биоинженерии и косметике [1]. Пленки на основе хитозана, благодаря ионным связям, обладают повышенной механической прочностью [2].

Нами был предложен новый метод формирования пленок на основе хитозана и минеральной глины - сапонита [3]. Сапонит - это глины группы монтмориллонитов состоящие из наноразмерных, заряженных частиц. Данный способ позволяет создавать механически прочные композитные пленки без химической модификации молекул хитозана и сохранить все его вышеперечисленные свойства. Метод формирования пленок заключается в формировании гидрогеля без фазового расслоения в ходе самоорганизации противоположно заряженных наночастиц глины и хитозана. Электростатические взаимодействия между частицами регулируются зарядом макромолекул полисахарида за счёт постепенного подкисления водного раствора [4]. После формирования гидрогель высушивается до постоянного веса.

Целью данной работы являлось применение нового метода формирования нанокompозитных пленок на основе хитозана и сапонита, а, кроме того, исследование механических свойств и морфологии получаемых материалов.

В данной работе представлены результаты изучения набухания пленок в водной среде, механических свойств и морфологии в зависимости от концентраций хитозана и сапонита. Получив значения степеней набухания (α , %) пленок в водной среде было определено оптимальное соотношение концентраций компонент системы, при которых α минимально. Это означает отсутствие свободных заряженных групп в системе и позволяет сделать вывод, что при формировании нанокompозита возникло наибольшее количество ионных связей.

Изучение морфологии систем хитозан-сапонит показало, что пространственная структура нанокompозита состоит из крупноразмерных модифицированных пластин до 10 мкм длиной и до 0,2 мкм толщиной. Показано, что при оптимальных концентрациях компонент системы пространственная структура уплотняется, пластины уменьшаются в размерах. Кроме того, уплотненная пространственная структура так же проявляла наименьшую степень набухания.

Механические и термические свойства нанокompозитных материалов хитозана с сапонитом были исследованы методом динамического механического анализа. Установлено, что системы, проявляющие пластинчатую морфологию, преимущественно обладают пониженной механической прочностью. При переходе к системе с уплотненной структурой наблюдается заметное увеличение прочности пленок. Изучение термических свойств показало, что системы, обладающие уплотненной пространственной структурой, имеют ярко выраженный температурный переход стеклования, а так же статистически устойчивое значение модуля плато. Такое термическое поведение нанокompозитов связано с возникновением высокоупорядоченной наноразмерной пространственной структуры.

6. Rinaudo M // Progress in Polymer Science. 2006. V.31. P. 603-632.

7. Гальбрайт Л.С. // Соросовский образовательный журнал. V.1 P. 51-56

8. Yury Shchipunov, Nadya Ivanova and Vladimir Silant'ev // Green Chemistry. 2009. V11. P. 1758-1761.

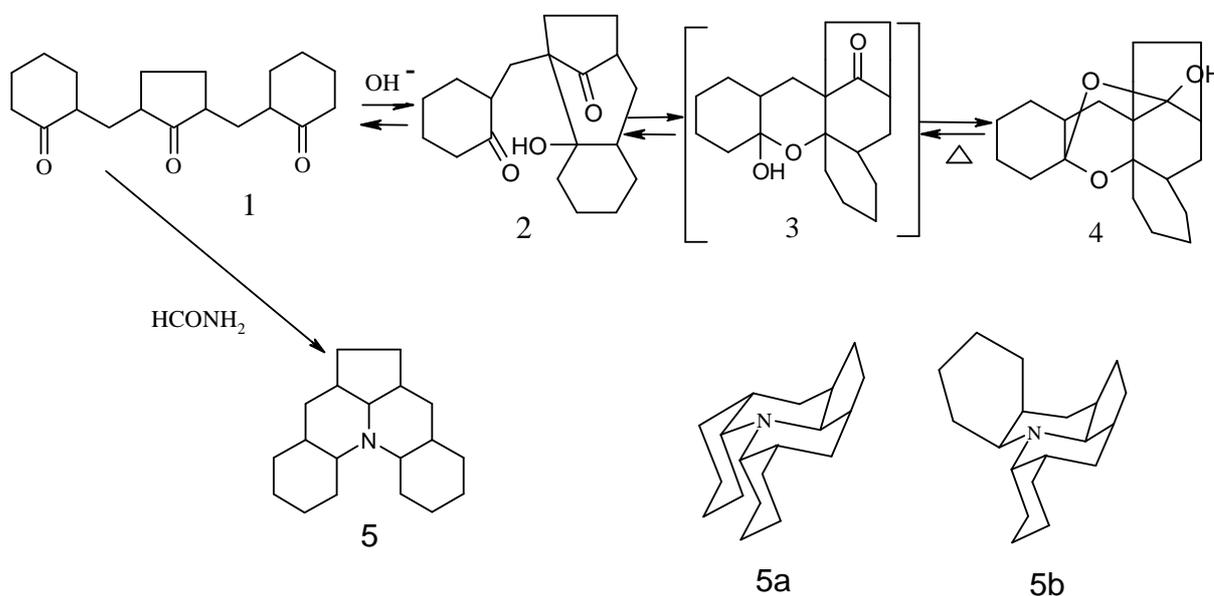
9. Yury Shchipunov, Sergei Sarin, Il Kim and Chang-Sik Ha // Green Chemistry/ 2010 V.12. P. 1187–1195.

Алициклический 1,5,9 –трикетон - 2,5-бис[(2оксоциклогексил)метил]циклопентанон в реакции восстановительного аминирования (1).

О.А. Солдаткина, Т.И. Акимова
 Дальневосточный Государственный Университет
 Электронная почта: Le_87_87@mail.ru

В ряду малоизученных алициклических 1,5,9-трикетонов некоторые реакции были исследованы на примере одного из них – содержащего только шестичленные циклы [1]. Расширяя круг исходных субстратов, в качестве исследуемого объекта мы выбрали трикетон **1**, имеющий в своем составе пятичленный цикл.

Известно, что под действием щелочи **1** в результате каскадной реакции превращается в циклическую форму **4**, которая при нагревании до $T_{пл}$ дециклизуется в **1**. Процесс протекает через промежуточные формы **2** и **3**.



В реакции Лейкарта (HCONH_2 , HCOOH , $T = 165^\circ\text{C}$) из трикетона **1** образовалась смесь 7 стереоизомеров соединения **5**, являющегося аналогом структурного звена хинолизиновых алкалоидов. В условиях стереоселективного гидроаминирования (NaBH_3CN , $T = 20^\circ\text{C}$, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ абсолют.) образовалась смесь 3 стереоизомеров соединения **5**, из которых колоночной хроматографией на Al_2O_3 выделено 2. Стереохимия стереоизомеров **5a** и **5b** установлена методом ЯМР ^1H .

Список литературы:

1. N.S.Kravchenko, V.A.Denisenko, T.I.Akimova // Tetrahedron. 2008. V. 9548. P. 4204

Электрофорез ферментов как метод генетического анализа в систематике морских блюдечек рода *Lottia*

М.В. Способ

Дальневосточный государственный университет

Электронная почта: mashasposob@mail.ru

С помощью метода электрофореза ферментов сравнили виды (*Lottia kogamogai*, *L. persona*, *L. tenuisculpta*, *L. versicolor*) из Амурского и Уссурийского заливов, так же для сравнения в исследование был включен вид, принадлежащий к другому роду – *Nipponacmea moskalevi*. Анализ проводился по 17 аллозимным локусам, которые кодировали 12 ферментов: Эстераза (*Est-1*, *Est-2*, *Est-3*), Глутаматпируваттрансаминаза (*Gpt*), Малатдегидрогеназа (*Mdh-1*, *Mdh-2*), Глюкозофосфатизомераза (*Gpi*), Глутаматоксалоацетаттрансаминаза (*Got-1*, *Got-2*), Малат дегидрогеназа (*ME-1*, *ME-2*), 6-фосфоглюконат дегидрогеназа (*bpgd*), Глутатион редуктаза (*Gr*), Супероксид дисмутаза (*Sod*), Аргинин киназа (*Argk*), Акониатаза (*Acon*), Кислая фосфотаза (*Acp*). Для оценки степени генетического сходства (*I*) (Nei, 1978) и расстояния (*D*) (Nei, 1978) на основании частот аллелей были рассчитаны индексы генетического сходства и генетического расстояния между пятью исследованными видами морских блюдечек (Nei, 1978). Для наглядного представления генетического сходства была построена фенограмма, с использованием невзвешенного парногруппового метода кластеризации (UPGMA) (Рис. 1).

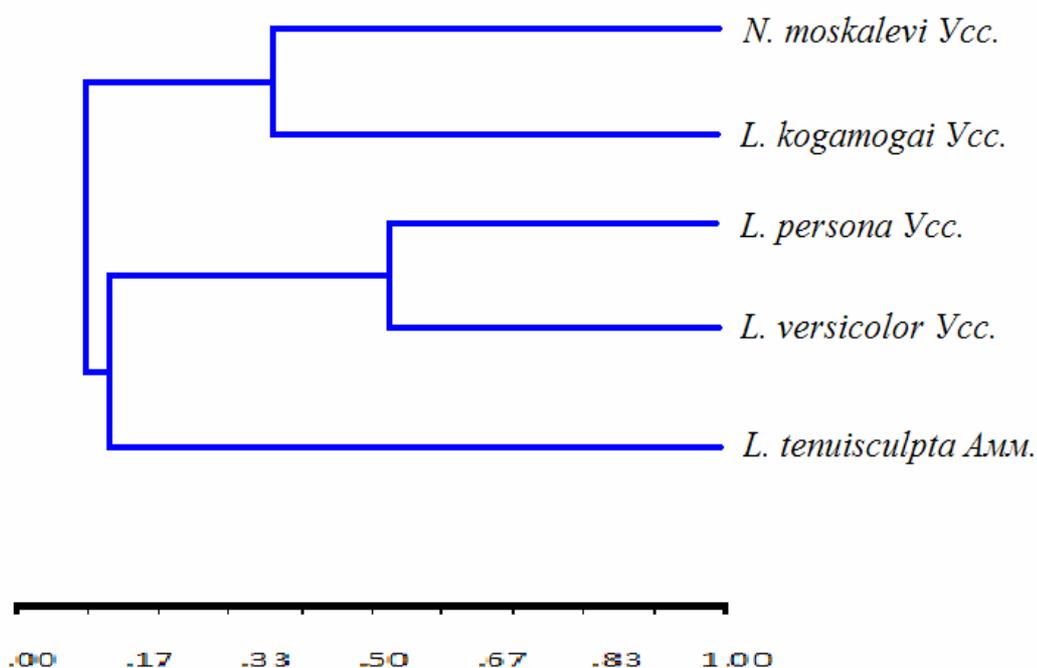


Рис.1. Фенограмма, отражающая генетическое сходство (*I*) (Nei, 1978) между всеми исследуемыми выборками морских блюдечек (UPGMA).

По полученным данным *L. kogamogai* кластеризуется с *N. moskalevi*; по ранее полученным данным такое имело место при некоторых способах построения фенограмм. *L. persona* объединяется с *L. versicolor*, а не с *L. tenuisculpta*, как в более ранних исследованиях. Основные вопросы связаны с *L. tenuisculpta* из Амурского залива, поскольку этот вид характеризуется отклонением от равновесия Харди-Вайнберга по нескольким локусам (*Got-1*, *Got-2*, *Est-1*, *Est-3*, *bpgd*, *ME-2*, *Gpi*). Кроме того, по результатам полученным ранее, значение генетического сходства между *L. persona* и *L. tenuisculpta* из залива Восток составляет 0,676. По нашим данным эта величина намного меньше ($I = 0,121$). Это может свидетельствовать о том, что в заливе Петра Великого обитает вид-двойник *L. tenuisculpta*.

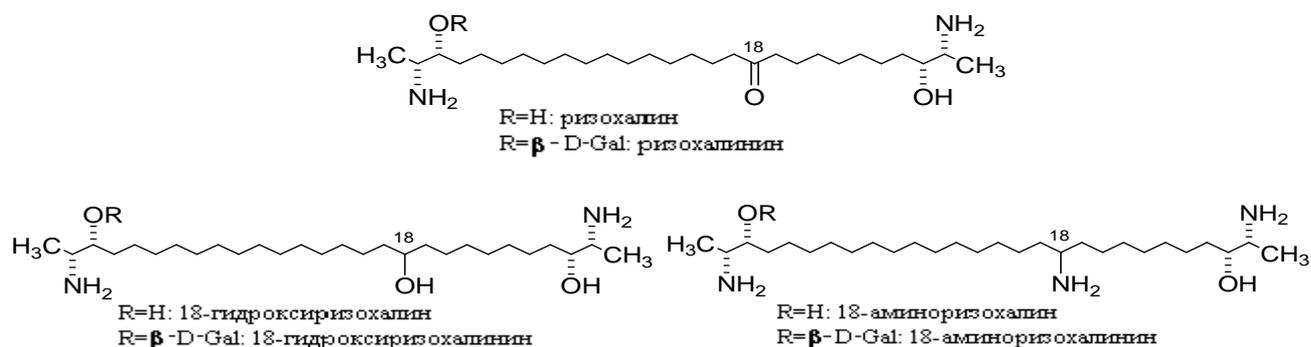
Получение новых двухголовых сфинголипидов из губки *Rhizochalina incrustata* и изучение их антилейкемической активности

К.М. Табакмахер, А.С. Кузьмич, Т.Н. Макарьева

Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: dark_xen@mail.ru

В настоящее время актуальным вопросом в исследовании бифункциональных кетосфинголипидов является установление зависимости между структурой и биологической активностью этих метаболитов. Нами были получены 18-амино- и 18-гидроксипроизводные ризохалина [1] и ризохалинина [2, 3]. Их химические структуры изучены и подтверждены с использованием масс-спектров HRESI и методов ЯМР ^1H и ^{13}C спектроскопии, включая COSY и HMBC эксперименты. С помощью MTS-метода определения цитотоксичности [4] определена цитотоксическая активность по отношению к двум линиям клеток лейкемии человека (ТНР-1 и HL-60) для ризохалина, ризохалинина и их 18-гидрокси- и 18-аминопроизводных. Показано, что в ряду гликозилированных двухголовых сфинголипидов и в ряду их агликонов ингибирующие концентрации (IC_{50}) имеют значения практически одного порядка. Установлено, что дегликозилированные представители исследуемого класса соединений на порядок более активны, чем гликозилированные. Отмечено, что для двухголовых сфинголипидов функциональные группы в положении С-18, такие как: кето-, гидрокси- и амино-группа, не оказывают влияния на цитотоксическую активность в отношении клеток лейкемии человека (ТНР-1 и HL-60).



Вещество	IC_{50} , μM	
	ТНР-1	HL-60
Ризохалин	16,3	32,6
18-гидроксиризохалин	17,6	33,7
18-аминоризохалин	26,1	35,96
Ризохалинин	2,4	3,7
18-гидроксиризохалинин	1,9	2,4
18-аминоризохалинин	2,3	3,3

1. Makarieva T., Denisenko V., Stonik V., Milgrom Yu. N., Rashkes Ya. W. // Tetrahedron Lett. 1989. V. 30. N 47. P. 6581-6584.
2. Jin J., Shastina V., Park J., Han J., Makarieva T., Fedorov S., asskazov V., Stonik V., Kwak J. // Biol. Pharm. Bull. 2009. V. 32. N 6. P. 955-962.
3. Fedorov S., Makarieva T., Guzii A., Shubina L., Kwak J., Stonik V. // Lipids. 2009. V. 44. N 9. P. 777-785.
4. Baltrop J., Owen T., Cory A. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 1991. V. 1. P. 611-614.

**Ризохалин Е – новый минорный бифункциональный кетосфинголипид из губки
*Rhizochalina incrustata***

К.М. Табакмахер, Т.Н. Макарьева

Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: dark_xen@mail.ru

В настоящее время известно лишь 12 природных соединений, относящихся к двухголовым сфинголипидам, 8 из которых содержат в своих полиметиленовых цепях карбонильную группу. Нами был выделен в виде перацетатного производного новый уникальный бифункциональный кетосфинголипид из морской губки *Rhizochalina incrustata*. Его структура установлена на основании данных HRESI масс-спектрометрии и ЯМР ^1H спектроскопии, а также химических превращений, включая окисление по реакции Байера-Виллигера. Новый природный метаболит, названный ризохалином Е, является беспрецедентным С-27 гомологом обычной С-28 димерной сфинголипидной структуры. Сравнение данных ЯМР ^1H спектроскопии, полученных для перацетата ризохалина Е, с данными из литературных источников для соединений этого класса, выделенных ранее, позволило сделать вывод об относительной конфигурации ассиметрических центров в перацетате ризохалина Е. Оба конца молекулы имеют *трео* конфигурацию ассиметрических центров, как и в ризохалине [1], ризохалине А [2], В [3] и D [4]. Химической деградацией была установлена локализация карбонильной группы в новом соединении. После окисления перацетата ризохалина Е по реакции Байера-Виллигера, метанолиза образовавшихся сложных эфиров и ацетилирования продуктов метанолиза получилась смесь перацетатов, которые были проанализированы методом масс-спектрометрии HRESI. Наличие в спектре пиков с m/z 724 ($M+Na^+$) и m/z 324 ($M+Na^+$) однозначно указывает на положение карбонильной группы при С-18 в ризохалине Е. Такой результат подтверждает предположение о том, что биосинтетические пути образования бифункциональных кетосфинголипидов связаны с одним и тем же липидным предшественником.



1. Makarieva T., Denisenko V., Stonik V., Milgrom Yu. N., Rashkes Ya. W. // Tetrahedron Lett. 1989. V. 30. N 47. P. 6581-6584.
2. Makarieva T., Guzii A., Denisenko V., Dmitrenok P., Santalova E., Pokanevich E., Molinski T., Stonik V. // J. Nat. Prod. 2005. V. 68. N 2. P. 255-257.
3. Макарьева Т., Гузий А., Денисенко В., Дмитренко П., Стоник В. // Изв. АН. Сер. хим. 2008. Т. 3. С. 656-660.
4. Makarieva T., Dmitrenok P., Zakharenko A., Denisenko V., Guzii A., Ronghua Li, Skepper C., Molinski T., Stonik V. // J. Nat. Prod. 2007. Vol. 70. N 12. P. 1991-1998.

Усовершенствованная «фарингеальная ловушка»

Е.С. Тарасюк, С.С. Целуйко

Амурская Государственная Медицинская Академия

Электронная почта: ssemioo@rambler.ru

Рост числа тяжело протекающих заболеваний респираторной системы, обусловлен, прежде всего, поздней диагностикой болезни и недооценкой опасности ее тяжелых последствий, как на поликлиническом, так и на госпитальном этапе.

Изучение механизмов воспаления при заболеваниях респираторной системы и контроль над ними, в частности для оптимизации лечения, предусматривают количественную оценку степени выраженности этого процесса

Проведенный нами анализ существующих традиционных методов, получения и исследования секрета бронхов позволяет считать, что эти методы обладают разной информативностью, сложностью выполнения, имеют ряд существенных недостатков. Они заключаются в том, что практически все перечисленные методики вызывают изменение состава секрета, присутствующего в дыхательных путях (примесь слюны к получаемому материалу, эффект разведения, дополнительная стимуляция секреции при инвазивных процедурах), сопряжены с технической сложностью выполнения и травматизацией дыхательных путей, что искажает свойства базального трахеобронхиального секрета (индуцированная мокрота, бронхоальвеолярный лаваж).

В результате проведенных нами исследований предложена усовершенствованная методика получения и исследования цитологических характеристик БТС. Благодаря новой методике стала возможна количественная оценка клеточного состава БТС у здоровых людей и при патологии респираторной системы.

Мы разработали новый вариант устройства для получения базального трахеобронхиального секрета и оценки диагностической значимости его цитологических характеристик, на основе оригинального базового устройства названного его автором В. А. Добрых «фарингеальной ловушкой (ФЛ)».

Предложенный нами вариант устройства, позволяет:

1. Вместо традиционно используемых для изготовления ФЛ металлических пластин была применена текстурированная пластиковая полоска толщиной 3 мм и изогнутая специальным придающим ей упругость способом.

В отличие от металлических устройств предложенная ФЛ не подвергается химической коррозии от воздействия слюны легко моется и обрабатывается дез-средствами не раздражает слизистую оболочку полости рта и не вызывает неприятных ощущений и отрицательных эмоций у пациентов. В ходе забора секрета не происходит загрязнение его металлическими включениями, что сказывается в дальнейшем на качестве обработке и исследовании материалов.

2. В предложенной ФЛ используются съемные пластиковые накладки индивидуально применяемые для каждого отдельного пациента. Это не только исключает загрязнение получаемого секрета чужеродным биологическим материалом, но и отвечает требованиям санитарно - эпидемиологического контроля.

3. Использование съемных пластин на верхней и нижней пластинках ФЛ позволяет одновременно производить забор базального трахеобронхиального секрета и секрета слизистой языка.

4. Использование съемных покровных стекол, закрепленных на нижней поверхности съемных пластин позволяет избежать традиционно используемой сложной процедуры переноса секрета с экрана устройства на предметное стекло. При этом съемное покровное стекло, с успехом заменяет предметное стекло, что имеет неоспоримое преимущество при таких характеристиках, как время и качество забора и обработка получаемого материала.

5. Предлагаемая ФЛ в отличие от традиционной позволяет использовать ее при заборе материала во время массового исследования при медицинских осмотрах и массовых эпидемиях населения с заболеваниями дыхательной системы.

Д.В. Тарбеева^а, А.В. Скрипцова^б, Н.М. Шевченко^в,

^а Дальневосточный государственный университет

^б Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского, Дальневосточное отделение РАН

^в Тихоокеанский институт биоорганической химии Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: natalyshe@piboc.dvo.ru

Бурые водоросли – источник уникальных по своей структуре и физиологической активности полисахаридов – широко известной альгиновой кислоты, а также ламинаранов и фукоиданов. Изучается антиопухолевое, иммуностимулирующее, радиопротекторное, антивирусное действие этих полисахаридов, а также антикоагулянтная и другие активности, характерные для фукоиданов.

Относительно различий в содержании и структурных изменениях фукоиданов в бурых водорослях в зависимости от стадии развития, в литературе имеются ограниченные сведения¹. Исследование сезонных изменений полисахаридного состава водорослей и строения отдельных полисахаридов имеет практическое значение для определения оптимальных сроков сбора водорослей с целью выделения полисахаридов определенного состава и структуры для использования в медицине и пищевой промышленности.

Нами была проведена количественная оценка содержания фукоиданов и альгиновых кислот для 5 видов бурых водорослей (*Silvetia babingtonii*, *Fucus evanescens* (Fucaceae), *Saccharina japonica* (Laminariaceae), *Sargassum pallidum* (Sargassaceae), *Alaria sp.* (Alariaceae)). Методом спектрофотометрии было определено содержание фукоиданов в данных видах бурых водорослей и показано, что на стадии спороношения содержание фукоидана возрастает в 1,5 – 2 раза во всех исследованных видах. Это согласуется с ранее опубликованными данными¹. Наиболее высокое содержание фукоиданов наблюдалось в водорослях семейства Fucaceae (*Silvetia babingtonii* и *Fucus evanescens*). Для большинства исследованных видов не было выявлено значительных различий в содержании альгиновой кислоты, за исключением водоросли *Saccharina japonica*, где при переходе водоросли к репродуктивному состоянию наблюдалось резкое понижение содержания альгиновой кислоты, что согласуется с ранее опубликованными данными¹.

Кроме того, нами был определён моносахаридный состав водорастворимых полисахаридов из данных видов бурых водорослей. Отмечено, что на стадии спороношения содержание маннозы несколько снижается, а галактозы, напротив увеличивается (за исключением представителей семейства Fucaceae). Из полученных нами данных следует, что фукоидан из водорослей порядка Laminariales на ранних стадиях развития водорослей представляет собой сульфатированный манногалактофукан, а на стадии спороношения – сульфатированный галактофукан. Примечательно, что водорастворимые полисахариды из водорослей *Fucus evanescens* и *Silvetia babingtonii* имеют сходный моносахаридный состав, что объясняется их близким таксономическим положением.

¹ Honya M., Mori H., Anzai M., Araki Y., Nisizawa K. // Hydrobiologia. 1999. V. 398/399. P. 411-416.

¹ Skriptsova A.V., Shevchenko N.M., Zvyagintseva T.N., Imbs T.I. // J. Appl. Phycol. 2010. V. 22. P. 79-86.

¹ Имбс Т.И., Шевченко Н.М., Суховерков С.В., Семёнова Т.Л., Скрипцова А.В., Звягинцева Т.Н. // Хим. прир. соед. 2009. № 6. С. 661-665.

Мультигенное семейство актинопоринов из актинии *Heteractis crispa*.

Е. С. Ткачева, А. А. Еськов, Е. В. Лейченко, М. П. Исаева, М. М. Монастырная, Э. П. Козловская
Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН
Электронная почта: estkacheva@gmail.com

Стрекательные клетки актиний (нематоцисты) продуцируют различные токсины: нейротоксины, цитотоксины, кардиотоксины и гемолизины (актинопорины). Каждая актиния синтезирует множество изоформ цитолитических токсинов с разными биологическими свойствами. В настоящее время уже описаны высоко гомологичные актинопорины, присутствующие совместно в одном виде-продуценте: например, стихолизины I, II из актинии *Stichodactyla helianthus* [1], эквинатоксины I, II, IV и V из актинии *Actinia equina* [2], множество изоформ магнификализинов из *Heteractis magnifica* [3]. Было показано, что каждый из токсинов кодируется своим собственным геном, и изоформы одного токсина формируют мультигенное семейство [2, 3]. Ранее из актинии *Heteractis crispa* было выделено и охарактеризовано четыре актинопорина [4-6] с высокой степенью гомологии аминокислотных последовательностей. Таким образом, было показано, что *H. crispa*, подобно другим актиниям, продуцирует различные изоформы актинопоринов.

Для определения последовательностей актинопоринов к-ДНК актинии *H. crispa* была амплифицирована с генспецифичными праймерами и полученные фрагменты были клонированы. Двадцать два клон, содержащие корректную вставку, были проанализированы и на основании полученных нуклеотидных последовательностей генов были выведены аминокислотные последовательности семнадцати актинопоринов. Большинство полученных аминокислотных последовательностей различаются незначительно - всего одним-двумя аминокислотными остатками, в основном, это консервативные замены. Некоторые последовательности имеют более десяти аминокислотных замен. Идентичность нуклеотидных последовательностей генов, кодирующих актинопорины актинии *H. crispa*, составляет 93-100%, а идентичность их аминокислотных последовательностей – 88-100%. Эти актинопорины имеют близкие значения молекулярных масс (19.14 - 19.36 кДа) и изоэлектрических точек (8.68 – 9.20). Таким образом, было показано, что актиния *H. crispa* продуцирует как минимум семнадцать изоформ актинопоринов, и каждый актинопорин кодируется своим собственным геном.

[1] Kem, W.R., Dunn, B.M. // *Toxicon*. 1988. V. 26, P. 997–1008.

[2] Anderluh, G., Krizaj, I., Strukelj, B., Gubensek, F., Macek, P., Pungercar, J. // *Toxicon*. 1999. V. 37, P. 1391–1401.

[3] Wang Y., Chua K.L., Khoo H.E. // *Toxicon*. 2008. V. 51. P. 1374– 1382.

[4] Monastyrnaya M.M., Zykova T.A., Apalikova O.V., Shwets T.V., Kozlovskaya E.P. // *Toxicon*. 2002. V. 40. P. 1197-1217.

[5] Klyshko E.V., Issaeva M.P., Monastyrnaya M.M., Il'ina A.P., Guzev K.V., Vakorina T.I., Dmitrenok P.S., Zykova T.A., Kozlovskaya E.P. // *Toxicon*. 2004. V. 44. P. 315-324.

[6] Il'ina, A., Lipkin, A., Barsova, E., Issaeva, M., Leychenko, E., Guzev, K., Monastyrnaya, M., Lukyanov, S., Kozlovskaya, E. // *Toxicon*. 2006. V. 47, P. 517-520.

Исследование эксцизионной репарации оснований ДНК в эмбриональном развитии морского ежа *Strongylocentrotus intermedius*

Н.А. Торгашева

Новосибирский институт химической биологии и фундаментальной медицины, Сибирское отделение РАН

Электронная почта: strongylocentrotus.gvb@gmail.com

Репарация ДНК – совокупность нескольких ферментативных процессов, которые в живых клетках осуществляют исправление повреждений ДНК, возникающих под действием разнообразных экзогенных и эндогенных агентов. Один из видов репарации ДНК, эксцизионная репарация оснований, отвечает за исправление окисленных, алкилированных и дезаминированных оснований ДНК, а также апурин-апиримидиновых сайтов. Репарация ДНК наиболее активно протекает в часто делящихся клетках, поэтому представляет интерес исследование этих процессов в эмбриональном развитии животных и растений. Морские ежи рода *Strongylocentrotus* являются удобным объектом для подобных исследований, т.к. их эмбриогенез подробно описан, и секвенирован геном одного из видов, *Strongylocentrotus purpuratus*. В настоящей работе использованы олигодезоксирибонуклеотидные субстраты, содержащие поврежденные звенья в определенных позициях, для исследования активности нескольких ферментов эксцизионной репарации оснований на разных стадиях эмбрионального развития морского ежа *Strongylocentrotus intermedius*. Показано наличие на всех стадиях развития урацил-ДНК-гликозилазной и апурин-апиримидин-эндонуклеазной активностей. Показано, что удельная урацил-ДНК-гликозилазная активность возрастает в ходе развития, что может быть связано с увеличением числа событий репликации на единицу времени. Активность 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы на всех стадиях развития была очень низкой, что, возможно, объясняется недостаточно эффективной стимуляцией этого фермента другими белками эксцизионной репарации оснований. В целом результаты настоящего исследования подчеркивают важность быстрой репарации повреждений ДНК при активном делении клеток в ходе эмбрионального развития.

Структура и экспрессия кальций зависимой протеинкиназы *PgCDPK1a* в корнях, листьях и клеточных культурах женьшеня *Panax ginseng*

А. В. Турленко, К. В. Киселев

Биолого-почвенный институт, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: anna.turlenko@gmail.com

Кальций зависимые протеинкиназы (CDPK) играют важную роль во многих биохимических процессах в клетках растений, в том числе, в защитных реакциях растений (Cheng et al., 2002). Целью данного исследования было определение полной нуклеотидной последовательности генов *CDPK* женьшеня *Panax ginseng* var. *Mimaki* C.A. Meyer и определение их возможных функций с помощью анализа экспрессии генов *CDPK* в разных частях растений и в культурах клеток женьшеня с разными анатомическими и биохимическими характеристиками. Интерес к женьшеню *P. ginseng* объясняется тем, что он является одним из самых ценных растений Восточной медицины и изучение процессов размножения и сохранения женьшеня особо актуально в наше время.

В результате нами определена полная последовательность кДНК первого гена *CDPK* женьшеня *P. ginseng*, который назван нами *PgCDPK1a* (генбанк GU137295). Выведенная аминокислотная последовательность гена *PgCDPK1a* обладает высокой идентичностью с некоторыми аминокислотными последовательностями ранее описанных *CDPK* других растений. Далее с помощью ПЦР в реальном времени нами проанализирована экспрессия *PgCDPK1a* в листьях и корнях дикорастущего растения *P. ginseng*, а также в листьях *P. ginseng*, культивируемого на открытой экспериментальной плантации. Уровень экспрессии *PgCDPK1a* был выше в молодых листьях культивируемого растения, чем в листьях дикорастущего. Далее, нами изучено влияние фитогормона ауксина (4-CPA) и солевого стресса на уровень экспрессии гена *PgCDPK1a* в каллусных культурах *P. ginseng*. Была обнаружена положительная корреляция между уровнем экспрессии *PgCDPK1a*, приростом сырой биомассы и концентрацией ауксина в питательной среде. Интересно, что прирост сырой биомассы и экспрессия *PgCDPK1a* значительно снижалась в условиях солевого стресса. В заключение, нами был проанализирован уровень экспрессии *PgCDPK1a* в пяти *rolC* и *rolB* трансгенных каллусах *P. ginseng*, с разным уровнем содержания гинзенозидов, экспрессией патоген-связанных (PR) генов и устойчивостью к солевому стрессу (Kiselev et al., 2008; Kiselev et al., 2010). Было показано, что в культурах клеток с высокой продукцией гинзенозидов, экспрессией PR генов и повышенной устойчивостью к солевому стрессу, экспрессия гена *PgCDPK1a* была значительно ниже, чем в других культурах клеток.

Таким образом, нами была получена полная последовательность кДНК гена *PgCDPK1a*, проанализирован уровень экспрессии этого гена в разных частях растения женьшеня *P. ginseng* и в разных культурах клеток *P. ginseng*. В итоге обнаружена сильная положительная корреляция между экспрессией *PgCDPK1a* и приростом сырой биомассы клеток *P. ginseng* и менее отчетливая отрицательная корреляция между экспрессией *PgCDPK1a* с уровнем экспрессии PR генов, устойчивости к солевому стрессу и содержанием гинзенозидов. Возможно, *PgCDPK1a* является позитивным регулятором клеточного роста женьшеня.

Исследование биосинтеза резвератрола и экспрессии метилаз в клеточных культурах винограда амурского *Vitis amurensis* Rupr. при индуцируемом падении общего статуса метилирования ДНКА.П. Тюнин^{1,2}, К.В. Киселев¹¹Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, 690022²Дальневосточный государственный университет, Владивосток, 690090
Электронная почта: mattbraun45@yandex.ru

Метилирование ДНК – важнейшая эпигенетическая модификация, приводящая к появлению в составе полинуклеотидной цепи минорных оснований 5'-метилцитозина и 6'-метиладенина. Ковалентное присоединение метильной группы, нарушает распознавание метилированных нуклеотидов для ферментов транскрипции, репарации и рестрикции ДНК, таким образом, являясь важнейшим фактором контроля экспрессии генов и поддержания стабильности генома. *In vivo* весь процесс осуществляется энзиматически классом ферментов – метилтрансферазами (метилазами). Для высших растений характерно метилирование ДНК исключительно по цитозиновым основаниям. В растительном геноме метилировано приблизительно от 6% до 33% всех цитозиновых нуклеотидов. Содержание и положение метилированных нуклеотидов в молекуле видо- и тканеспецифично и в норме отражает физиологический паттерн метилирования необходимый для нормального функционирования клетки. На данный момент описаны представители трех семейств растительных метилтрансфераз: Met, CMT (Chromomethylases) и DRM (Domain Reorganised Methylases) – все они мономерные белки, имеющие весьма вариабельный N-конец (отвечающий за распознавание метилируемой последовательности) и консервативный C- каталитический домен (при помощи которого и осуществляется сам процесс переноса метильной группы). Несомненным остается факт, что метилирование играет значительнейшую роль в процессе жизнедеятельности организмов, на всех этапах развития. Так, нарушение нормальной функции метилаз, приводит к серьезным отклонениям в онтогенезе растений, но чаще всего к летальному исходу. На данный момент есть основания полагать, что метилирование играет существенную роль в процессах вторичного метаболизма растений, однако исходя из литературных источников, механизм этого влияния мало изучен.

В приведенном нами исследовании трансгенные и не модифицированные клеточные культуры винограда амурского *Vitis amurensis* Rupr. культивировались в средах с добавлением различных концентраций деметилирующего агента «5А» (5'-азацитидин), что привело к неспецифическому падению общего статуса метилирования. Результатом этого процесса явилось увеличение продукции каллусами одного из ценнейших, с фармакологической точки зрения, фитоалексинов – резвератрола. Кроме того, добавление деметилирующего агента вызвало изменение в экспрессии метилтрансфераз по сравнению с нормой, как качественно, так и количественно, по мере повышения дозы «5А». Кроме того, было отмечено увеличение экспрессии некоторых генов семейства стельбенсинтаз (*STS*), кодирующих ферменты конечной стадии биосинтеза резвератрола. При этом в наибольшей степени увеличилась экспрессия, генов *STS* белковые продукты, которых в норме имеют сравнительно малую долю в общей экспрессии среди представителей этого мультигенного семейства. На основании этого, можно утверждать, что метилирование основных генов биосинтеза играет определенную роль во вторичном метаболизме растений, но, несомненно, механизм этого влияния нуждается в дальнейшем изучении.

Строение молекулярного комплексного соединения фторида сурьмы(III) с *L*-фенилаланином

А.А. Удовенко¹, Н.В. Макаренко¹, Р.Л. Давидович¹, Л.А. Земнухова¹

¹Институт химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: makarenko@ich.dvo.ru

В рамках проводимого систематического исследования [1,2,3] по химии и строению комплексных соединений фторида сурьмы(III) с аминокислотами впервые синтезирован молекулярный аддукт SbF_3 с *L*-фенилаланином состава $\text{SbF}_3(\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2)$ и определена его кристаллическая структура. Данные исследования проводятся с целью выявления новых веществ с ценными свойствами.

Соединение $\text{SbF}_3(\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2)$ синтезировано взаимодействием в слабом водном растворе HF фторида сурьмы(III) и *L*-фенилаланина. Монокристаллы соединения выращивали путем медленной кристаллизации водного раствора вещества при комнатной температуре.

Индивидуальность полученного соединения устанавливали методами химического, рентгенофазового и ИК-спектроскопического анализов.

Предварительные сведения о строении синтезированного молекулярного комплексного соединения получены на основании исследования его ИК-спектра поглощения, который сопоставлен с ИК-спектрами исходных веществ *L*-фенилаланина и SbF_3 . Наличие в молекуле *L*-фенилаланина, входящей в состав молекулярного комплекса, депротонированной карбоксильной группы COO^- и положительно заряженной группы NH_3^+ указывает на сохранение цвиттер-ионного строения этой молекулы при образовании молекулярного аддукта с SbF_3 . Заключение, сделанное на основании ИК-спектроскопического исследования строения синтезированного соединения, подтверждено при определении его кристаллической структуры.

Кристаллическая структура $\text{SbF}_3(\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2)$ образована из групп SbF_3 и молекул *L*-фенилаланина, объединенных атомами кислорода бидентатных мостиковых карбоксильных групп молекул аминокислоты в полимерные цепи, вытянутые вдоль оси *b* кристалла (рис. 1). Слабыми $\text{Sb} \cdots \text{F}(3)^b$ связями соседние цепи соединяются в полимерные ленты, которые водородными связями $\text{N-H} \cdots \text{F}$ и $\text{N-H} \cdots \text{O}$ объединяются в слои. В свою очередь Ван-дер-Ваальсовыми взаимодействиями слои объединяются в трехмерный каркас.

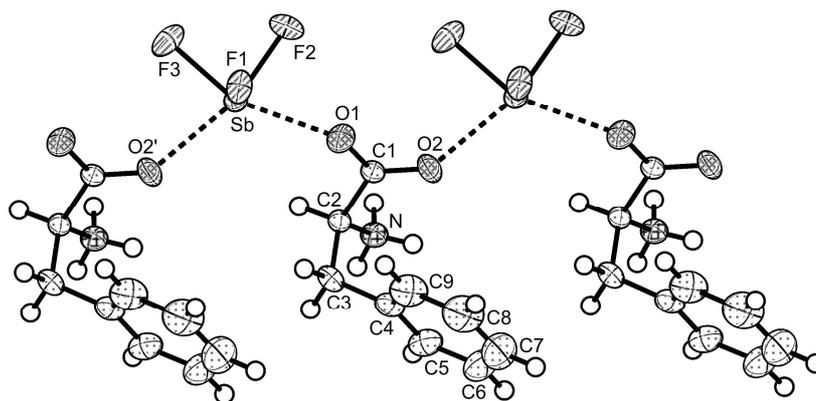


Рис. 1 Фрагмент полимерной цепи в структуре $\text{SbF}_3(\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2)$

Литература:

1. Давидович Р.Л., Логвинова В.Б., Земнухова Л.А. и др. // Координац. химия. 1991. Т. 17. № 10. С. 1342-1348.
2. Земнухова Л.А., Давидович Р.Л., Удовенко А.А. и др. // Координац. химия. 2005. Т.31. № 2. С. 125-131.
3. Удовенко А.А., Макаренко Н.В., Давидович Р.Л. и др. // Журн. структур. химии. 2010. Т. 51. № 4. С. 775-778.

Конструирование, клонирование и экспрессия рекомбинантного Skp *Yersinia pseudotuberculosis*

Файзулина Н.М., Исаева М.П., Хоменко В.А., Соловьева Т.Ф.

Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: fayzulina83@gmail.com

Молекулярные шапероны представляют собой группу высококонсервативных белков, функция которых заключается в правильной укладке синтезированных белков, сборке и распаду надмолекулярных белковых структур, транслокации белков через клеточные мембраны. Skp (Seventeen kilodalton protein) является бактериальным переплазматическим шапероном, участвующим в биогенезе белков наружной мембраны грамотрицательных бактерий [1]. Sk-подобные белки широко представлены в энтеробактериях и образуют семейство гомологичных низкомолекулярных белков (14–20 кДа) с ярко выраженными основными свойствами (pI 9–10) [2]. Наряду со способностью выполнять функции шаперона, Skp обладает рядом других биологически и физиологически значимых свойств. Например, этот белок проявляет липополисахарид- и ДНК-связывающую активность, является хемоаттрактантом для моноцитов и полиморфноядерных лейкоцитов [2], обладает свойствами антигенов, перекрестно реагирующих с HLA-B27 [1].

Данная работа посвящена получению рекомбинантного белка Skp. Проведенный сравнительный анализ геномных ДНК бактерий показал, что ген *skp* присутствует у бактерий рода *Yersinia*, включая *Y. pseudotuberculosis*. Данный ген находится в одном опероне с геном белка LpxD на расстоянии трех нуклеотидов, разделяя общий промотор и сайт связывания с рибосомой. Для получения зрелой формы белка была сконструирована экспрессионная плаزمидна на основе вектора серии рЕТ (Invitrogen, США), несущая ген целевого белка без сигнальной последовательности (435 п.о.). В качестве матрицы, на основе которой была получена кодируемая последовательность гена *skp*, была взята ДНК штамма *Y. pseudotuberculosis*. Клонирование последовательности, кодирующей Skp, проводилось через промежуточные стадии - субклонирование и бело-голубой скрининг, используя плазмидный вектор рTZ57R (Fermentas, Литва), и собственно, клонирование в экспрессионный вектор рЕТ32_Skp по сайтам рестрикции XhoI и SmaI. Поиск искомым рекомбинантных плазмид проводился с использованием ПЦР колоний и последующей рестрикцией PstI и XhoI. Результирующая плазмидна рЕТ32_Skp была проверена секвенированием на отсутствие мутаций в последовательности гена *skp* и трансформирована методом электропорации в штамм *E. coli* BL21(DE3) целью получения штамма-продуцента рекомбинантного Skp. Экспрессия белка проводилась в питательной среде 2xYT с ампициллином при 37С в присутствии 1мМ IPTG индуктора в течение 2 часов. С помощью SDS-ПААГ электрофореза было обнаружено, что во всех образцах в области 15 кДа присутствует ожидаемая интенсивная полоса, соответствующая рассчитанному молекулярному весу зрелого Skp. Дальнейшая работа будет связана с подбором условий выделения рекомбинантного белка.

1. Сидорин Е.В., Зиганшин Р.Х., Набережных Г.А., Лихацкая Г.Н., Трифонов Е.В., Анастюк С.Д., Черников О.В., Соловьева Т.Ф. Белок шаперон Skp из *Yersinia pseudotuberculosis* обладает способностью связывать иммуноглобулины g // Биохимия, 2009, том 74, вып. 4, с. 501 – 514.
2. Qu, J., Mayer, C., Behrens, S., Holst, O., and Kleinschmidt, J. H. The trimeric periplasmic chaperone Skp of *Escherichia coli* forms 1:1 complexes with outer membrane proteins via hydrophobic and electrostatic interactions // *J. Mol. Biol.*, 2007, 374, 91–105.
3. Bulieris, P., Behrens, S., Holst, O., and Kleinschmidt, J. H. Association of Spin-Labeled Lipids with β -Barrel Proteins from the Outer Membrane of *Escherichia coli* // *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, 9092–9099.

Ингибирование протеолиза яичного овальбумина протеин-пектиновыми комплексами

Д.С. Храмова

Учреждение РАН Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

Электронная почта: dkhramova@yahoo.com

Повышение проницаемости кишечной стенки для энтеральных антигенов обуславливает развитие энтеропатий кишечника [1] и аллергических расстройств [2]. Ранее нами показано, что протеин-пектиновые комплексы (ППК) снижают проникновение овальбумина в кровь [3]. Фрагменты белка, образующиеся в ходе протеолиза и имеющие молекулярную массу ниже массы нативного белка, будут легче проникать через кишечную стенку. Поэтому для выяснения того, каким образом ППК изменяют проницаемость кишечной стенки для овальбумина, интересным представилось изучить действие ППК на протеолиз белка.

В работе использованы ППК, выделенные из пищевых растений (болгарского перца *Capsicum annuum* L.; капусты *Brassica oleracea* L. и редьки *Raphanus sativus* L.) водным раствором соляной кислоты (рН 1.2-1.9) при 37°C. Овальбумин подвергали протеолизу *in vitro*. 1%-ные растворы белка и ППК готовили на фосфатном буфере (рН -7.0) и смешивали в отношении 1:1. К смеси добавляли пепсин (Sigma, 0.25 мг/мл) и тимерозал (Sigma, 0.07 мг/мл) и инкубировали при 37 °С в течение двух часов. При этом в течение инкубации при помощи перистальтического насоса в раствор добавляли 0.06 н HCl (скорость 0.7 мл/мин), что приводило к снижению рН с 7.0 до 1.85. Пробы отбирали каждые тридцать минут. Исследуемые образцы диализовали и лиофилизовали. Контрольные пробы белка подвергали протеолизу в тех же условиях, но без ППК. Степень протеолиза оценивали, определяя молекулярный вес расщепленных фрагментов, с помощью электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия [4]. Влияние ППК на активность пепсина определяли следующим образом: предварительно готовили 1%-ные растворы ППК на 0.06н HCl и нагревали до 37°C. К 5 мл такого раствора добавляли 300 мкл пепсина, охлажденного до 4°C (Sigma, 0.25 мг/мл), и инкубировали смесь при 37°C в течение 10 минут. После инкубации образцы центрифугировали (3000 об/мин, 5 минут, 4°C), затем 1 мл полученного супернатанта анализировали на остаточную ферментативную активность с соответствующим субстратом через 10, 20 и 30 минут. Активность пепсина определяли спектрофотометрически, используя в качестве субстрата 1%-ный раствор OVA [5]. Влияние исследуемых пектинов на активность протеаз выражали в % от контрольной активности чистого фермента с соответствующим субстратом в данное инкубационное время, которую принимали за 100%.

Протеолиз овальбумина *in vitro* в условиях, близких к гастральным, приводит к отщеплению фрагментов белков молекулярной массой 20 – 24, 14.2 - 20 и 6.5 – 14.2 кДа через 0.5, 1, 1.5 и 2 часа протеолиза. Показано, что в пробах белка, подвергнутого протеолизу в присутствии ППК, выделенных из перца, лука и редьки, фрагменты с молекулярной массой 14.2 - 20 и 6.5 – 14.2 кДа отсутствуют, что указывает на ингибирование протеолиза белка. Установлено, что ППК снижают активность пепсина на 40%. Таким образом, ППК, выделенные из перца, лука и редьки, ингибируют протеолиз овальбумина. Ингибирование протеолиза белка может быть обусловлено снижением активности протеолитического фермента.

1. Sanders D.S.A. // J Clin Pathol. 2005. V. 58. P. 568-572.
2. Weangsripanaval T., Moriyama T., Kageura T., Ogawa T., Kawada T. // J. Nutr. 2005. V. 135. P. 1738-1744.
3. Храмова Д.С. // Тезисы докладов VI Всероссийской школы-конференции «Химия и технология растительных веществ». Санкт-Петербург, 2010. С.298.
4. Laemmli U.K., Fare M. // J. Mol. Biol. 1973. V. 80. P. 575-599.
5. Kunitz M. // J. Gen. Physiol. 1946. V. 30. P 291-310.

Настоящая работа поддержана грантом РФФИ (09-04-00017-а).

Действие бацилломицина Д из *Bacillus subtilis* на проростки некоторых растений.

Е.Л. Чайкина, Г.К. Олейникова, М.М. Анисимов

Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: anisimov@piboc.dvo.ru

Применение физиологически активных веществ в растениеводстве является эффективным приемом повышения продуктивности сельскохозяйственных растений. Поэтому создание, выделение и испытание препаратов, обладающих подобными свойствами, является актуальной задачей.

Цель настоящей работы – изучение влияния бацилломицина Д, полученного из морского изолята бактерии *Bacillus subtilis* КММ 457 на рост корней и стеблей проростков сои (*Glycine max* (L.) Merr.), гречихи (*Fagopyrum esculentum* Moench.), кукурузы (*Zea mays* L.) и риса (*Oryza sativa* L.) Известно, что морские бактерии рода *Bacillus* являются продуцентами биологически активных низкомолекулярных циклических пептидов, в частности бацилломицина Д, которые проявляют фунгицидную, цитотоксическую и гемолитическую активности. Однако их действие на рост растений ранее не изучалось. Морской штамм бактерии *Bacillus subtilis* КММ 457 выделен из образца мягкого коралла *Sarcophyton sp.* (Южно-китайское море, Вьетнам).

Проростки исследуемых тест-культур по-разному реагируют на действие бацилломицина Д. Так, бацилломицин Д оказался неактивным по отношению к проросткам сои. Но оказал небольшое стимулирующее действие на рост корней проростков гречихи и кукурузы в концентрации 10 мкг/мл на 11 и 12% соответственно. Наибольший стимулирующий эффект исследуемое вещество показало на рост корней проростков риса на 19 и 26% в концентрациях 0.01 и 1.0 мкг/мл. В качестве положительного контроля мы использовали известный стимулятор роста растений, Indol-3-acetic acid, (гетероауксин), который оказал стимулирующее действие на рост корней всех исследуемых культур. Наибольший эффект получен на корнях гречихи и кукурузы в концентрации 0.0001 мкг/мл 23 и 37% соответственно.

Таблица 1 Влияние бацилломицина Д на рост корня и стебля некоторых сельскохозяйственных культур.

Культура	Орган	Концентрация, мкг/мл					
		контроль	0,001	0,01	0,1	1	10
		% к контролю					
Соя	Корень	100 ± 1	101 ± 2	93 ± 1	97 ± 3	102 ± 4	93 ± 1
	Стебель	100 ± 4	98 ± 5	93 ± 3	96 ± 2	104 ± 2	92 ± 4
Гречиха	Корень	100 ± 2	105 ± 1	108 ± 2	109 ± 1	110 ± 3	111 ± 1
	Стебель	100 ± 2	106 ± 3	110 ± 1	111 ± 1	112 ± 2	104 ± 3
Кукуруза	Корень	100 ± 2	105 ± 3	105 ± 1	108 ± 5	105 ± 2	112 ± 1
	Стебель	100 ± 3	107 ± 3	100 ± 4	106 ± 5	104 ± 3	108 ± 3
Рис	Корень	100 ± 2	110 ± 7	119 ± 9	118 ± 3	126 ± 5	113 ± 5
	Стебель	100 ± 5	108 ± 5	107 ± 3	109 ± 2	111 ± 6	107 ± 5

В результате проведенных исследований установлено, что бацилломицин Д, полученный из морского изолята бактерии *Bacillus subtilis* КММ 457 проявляет стимулирующее действие на рост корней проростков гречихи, кукурузы и риса.

Комбинаторная библиотека RG-полипептидов со структурой Кунитц-типа из актинии *Heteractis crispa*

В.Е. Чаусова, К.В. Гузев, Е.А. Зелепуга, В.М. Табакмахер, И.Н. Гладких, Е.В. Лейченко,
Э.П. Козловская, М.М. Монастырская, М.П. Исаева
Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН
Электронная почта: v.chausova@gmail.com

Актинии являются источником различных биологически активных веществ, в частности полипептидов со структурой Кунитц-типа. Хотя установлено около 40 структур, практически ничего не известно о структуре генов, кодирующих данный класс соединений. Известно, что нейротоксины и пороформирующие токсины актиний кодируются мультигенными семействами [1, 2]. Возможно, полипептиды семейства Кунитца также могут образовывать мультигенные семейства.

На основании ранее установленных нуклеотидных последовательностей GS-полипептидов актинии *H. crispa* со структурой Кунитц-типа [3] сконструированы ген-специфичные праймеры для получения RG-полипептидов. Полноразмерную кДНК библиотеку *H. crispa* использовали в качестве матрицы для ПЦР амплификации. В результате получены 34 индивидуальные аминокислотные последовательности зрелых RG-полипептидов, 10 из которых были представлены несколькими копиями. Процентное содержание некоторых из них варьировало от 5% (2 копии) до 58% (22 копии) от общего количества последовательностей. Для транслированных аминокислотных последовательностей установлена высокая степень гомологии, как между собой, так и с аминокислотными последовательностями известных ингибиторов протеиназ Кунитц-типа. Полученные данные свидетельствуют о том, что зрелые RG-полипептиды образуют комбинаторную библиотеку *H. crispa*.

Известно, что в центре реактивного сайта (в позиции P1) у большинства ингибиторов семейства Кунитца расположены основные остатки (Arg или Lys), отвечающие за связывание с трипсином, в основе которого лежат электростатические и гидрофобные взаимодействия [4]. В полученных последовательностях в позиции P₁ в 97% случаев обнаружен остаток Lys и лишь в 3% - Thr. Также полипептиды различаются по окружению первого Cys: в первой группе находится Leu, в то время как во второй – Ser. В сайте слабых взаимодействий (33-38 остатки) основные отличия наблюдаются по 38 положению: в обеих группах в основном встречаются Lys и Gly, тогда как во второй дополнительно появляются Glu и Arg. Методом молекулярного моделирования выяснена роль Arg1, который закрепляет виток альфа спирали на N-конце и способствует формированию α спираль - α спираль взаимодействий между N- и C-концами молекулы, отсутствующих в GS-полипептидах. RMSD для C-альфа атомов представителей данной группы по отношению к BPTI не превышает 1,50 Å.

На основании полученных данных можно предположить, что представители комбинаторной библиотеки *H. crispa*, зрелые RG-полипептиды, должны обладать трипсинингибирующей активностью, близкой к активности классического ингибитора протеиназ Кунитц-типа - BPTI.

1. Moran Y., Gordon D., Gurevitz M. // [Toxicon](#). 2009. V. 54. P. 1089-1101.
2. Wang Y., Yap LL., Chua KL., Khoo HE. // [Toxicon](#). 2008. V. 51. P. 1374-1382.
3. Чаусова В., Гладких И., Гузев К., Лейченко Е., Монастырская М., Козловская Э., Исаева М. // XII Всероссийская молодежная школа-конференция по актуальным проблемам химии и биологии: сборник трудов – Владивосток. 2009. С. 81.
4. Laskowski MJ., Kato I. // [Annu. Rev. Biochem.](#) 1980. V. 49. P. 593-626.

Клиническая гипнотерапия

Д.А. Шадрин, Н.Г. Браш

Амурская Государственная Медицинская Академия

Электронная почта: ssemioo@rambler.ru

Вряд ли можно найти среди пестрого многообразия современных техник и подходов столь же эффективное и действенное средство, как гипнотерапия.

Гипноз не нуждается в долгом представлении, сегодня он по-прежнему занимает лидирующие позиции в решении, казалось бы, неразрешимых задач.

Клиническая гипнотерапия - психотерапевтический метод, использующий гипноз в качестве терапевтического инструмента, способствует разрешению психологических, психосоматических и соматических проблем.

В гипнотическом состоянии может быть воспроизведен любой вид деятельности, любые психические состояния, как имевшие место в жизненном опыте человека, так и гипотетически возможные. Под гипнозом могут быть смоделированы различные клинические проявления функционального и в ряде случаев органического характера: аналгезия и анестезия, гиперестезия, каталепсия, регрессия и прогрессия возраста, галлюцинации, амнезия, гипермнезия, парамнезия, диссоциация, искажение времени.

В последние десятилетия ученые-неврологи развеяли миф о том, что гипнотический процесс поддерживается только мозгом. Они доказали, что важную роль в нем играют три составляющие: нейропептиды, эндорфины, правое и левое полушарии головного мозга.

Гипноз успешно применяется при лечении таких эмоционально-личностных нарушений, как избыточный вес и ожирение, неврозы всех форм, раздражительность и нетерпимость, заикание, депрессии, потеря радости и интереса к жизни, упадок сил, страхи и фобии и т.д.

В медицинской практике гипноз применяется для лечения психосоматических заболеваний, таких как язвенная болезнь, гипертоническая болезнь, бронхиальная астма, удушье, повышенное потоотделение, жар или озноб, излишняя сонливость, учащённое сердцебиение, онемение в разных частях тела, дурнота, тошнота и головокружение.

При правильно проведенном сеансе больной выходит из гипноза, не испытывая никаких неприятных ощущений и не предъявляя жалоб на самочувствие. Наоборот, обычно как во время сеанса, так и после него отмечаются спокойное, уравновешенное состояние, приятное самочувствие, уверенность в выздоровлении. Курс лечения должен быть индивидуальным и любая схема окажется весьма приблизительной. Слишком большое число сеансов гипнотерапии, особенно в течение одного курса лечения не рекомендуется.

Несмотря на универсальность медицинского применения гипноза у этого метода лечения болезней есть свои противопоказания. Наиболее важными и абсолютными из них являются любые острые соматические состояния, например, инфаркт миокарда, инфекции в сопровождении с высокой температурой, острый аппендицит. Не рекомендован гипноз при гипертонических и гипотонических кризах, сердечно-сосудистой недостаточности, кровотечениях и недоверии к гипнотерапевту. Гипноз абсолютно противопоказан при бредовых формах психоза и в первую очередь при шизофрении с бредом гипнотического воздействия и при бредовых формах психоза с бредом физического воздействия или чувством овладения (синдром Кандинского — Клерамбо). Гипноз противопоказан при тех психотических формах, при которых в силу бредовых интерпретаций сеанс гипнотерапии и сам психотерапевт будут вовлечены в бредовую структуру, что может ухудшить состояние больного, а иногда и

небезопасно для врача

Влияние кумаровой кислоты на экспрессию генов фенилаланин-аммиак-лиаз, стильбен синтаз и содержание резвератрола в культуре клеток *Vitis amurensis*

О.А. Шумакова^{1,2}, К.В. Киселев¹

¹Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, 690022

²Дальневосточный государственный университет, Владивосток, 690090
Электронная почта: shumakova_olga91@mail.ru

Виноград, в том числе и дикий виноград *Vitis amurensis* Rupr., относят к основным источникам резвератрола. Известно, что резвератрол (3,5,4'-тригидроксистильбен) обладает превентивными свойствами против некоторых видов рака, положительно влияет на сердечно-сосудистую систему, а также обладает высоким фармакологическим потенциалом в лечении нейродегенеративных заболеваний (Shankar et al., 2007). Биосинтез стильбенов, в том числе и резвератрола, идет фенилпропаноидным путем. Фенилаланин-аммиак-лиаза (PAL) – первый фермент в этом пути, катализирует дезаминирование фенилаланина, превращая его в коричную кислоту. С4Н катализирует присоединение гидроксильной группы в пароположение фенольного кольца коричной кислоты, образуя 4-кумаровую кислоту (КК). Стильбен синтаза или резвератрол синтаза (STS, EC 2.3.1.95) – это фермент, который непосредственно синтезирует резвератрол. STS конденсирует три молекулы малонил-КоА с одной молекулой кумарил-КоА, конечным продуктом этой реакции (C2→C7 альдольная конденсация) является резвератрол. Известно, что ферменты PAL и STS представлены мультигенными семействами.

Мы исследовали влияние предшественника стильбенов и изофлавоноидов КК (0, 0.1, 0.5, 2 mM) на продукцию резвератрола и экспрессию генов *PAL* и *STS* в культурах клеток винограда *V. amurensis*. В работе мы использовали культуру клеток *V. amurensis* VV, которая была получена в результате обработки культуры клеток V2 *V. amurensis* штаммом *Agrobacterium tumefaciens* GV3101/pPCV002 и культуру клеток VB2, полученную трансформацией геном *rolB* культуры клеток V2 (Kiselev et al., 2007). Содержание резвератрола определяли с помощью ТСХ и ВЭЖХ (Kiselev et al., 2007), экспрессию генов *PAL* и *STS* с помощью ПЦР в реальном времени по ранее описанной методике (Kiselev et al., 2009).

Нами показано, что КК в концентрации 0.1-0.5 mM достоверно увеличивает в 2-6 раза содержание и продукцию резвератрола в VV и VB2 культуре клеток винограда. Содержание и продукция в VB2 культуре достигало 0.95% от сухой массы клеток. Так же показано, что общая экспрессия генов *PAL* при добавлении 0.1 mM КК в культуру клеток *V. amurensis* оставалась неизменной, в то время как экспрессия генов *VaPAL1*, *VaPAL2*, *VaPAL3* и *VaPAL5* значительно уменьшалась при добавлении 0.5-2 mM КК. В *rolB* трансгенной культуре при добавлении КК экспрессия *VaSTS2* достоверно возрастала, тогда как экспрессия генов *VaSTS5*, *VaSTS8*, *VaSTS9* и *VaSTS10* ингибировалась. Эти результаты указывают, что КК повысила содержание резвератрола через выборочное воздействие на экспрессию отдельных генов *STS*.

Таким образом, мы впервые показали влияние КК - предшественника резвератрола на содержание экспрессию генов мультигенных семейств *VaPAL* и *VaSTS* и на биосинтез резвератрола в культурах клеток *V. amurensis*.

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

Kiselev K.V., Dubrovina A.S., Bulgakov V.P. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2009. V. 82. P. 647-655

Shankar S., Singh G., Srivastava R.K. // Front. Bios. 2007. V. 12. P. 4839-4854

Мутагенез генов растений при длительном культивировании клеток женьшеня *Panax ginseng*

О.А. Шумакова^{1,2}, К.В. Киселев^{1*}

¹Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, 690022

²Дальневосточный государственный университет, Владивосток, 690090

*Электронная почта: kiselev@biosoil.ru

Ранее было показано, что нуклеотидная последовательность селективного маркера *nptII* и онкогена *rolC* из агробактерий *Agrobacterium rhizogenes* при длительном культивировании в клетках женьшеня *Panax ginseng* подвергается мутагенезу (Kiselev et al., 2009). В настоящем исследовании было интересно сравнить последовательности генов растений в 20-летних культурах клеток женьшеня *P. ginseng* и в листьях плантационного растения. Для сравнения мы выбрали последовательности нескольких семейств генов, относящихся к разным группам: гены домашнего хозяйства (гены актина женьшеня), гены биосинтеза гинзенозидов (гены фенилаланин-аммиак-лиаз, PAL; гены даммарендиол синтаз, DDS), гены, участвующие в регуляции эмбриогенеза растений (гены рецепторных киназ соматического эмбриогенеза, SERK).

В своей работе мы показали, что гены растений при длительном культивировании также подвергаются мутагенезу: появляются многочисленные замены нуклеотидов. Наибольший уровень нуклеотидных замен был характерен для генов *SERK* (2.00 ± 0.11 п.н. на 1000 проанализированных п.н.) и этот уровень был значительно выше, чем в растениях. Так же важным отличием клеток растений от культивируемых клеток было количество определяемых генов в выбранных семействах. Так многообразие генов в клетках растения всегда было больше, чем в культивируемых клетках, за исключением генов актина. Количество генов актина в культивируемых клетках и клетках растения значительно не отличалось. Таким образом, мы впервые в своей работе детально описываем уровень и вид нуклеотидных замен в генах растений при длительном культивировании.

Kiselev K.V., Turlenko A.V., Tchernoded G.K., Zhuravlev Y.N. // Plant Cell Rep. 2009. V. 28. P. 1273-1278

Ароматические метаболиты факультативных морских грибов рода *Penicillium*, ассоциированных с морской травой *Zostera marina*

А.Н. Юрченко¹, О.Ф. Сметанина²

¹Дальневосточный государственный университет

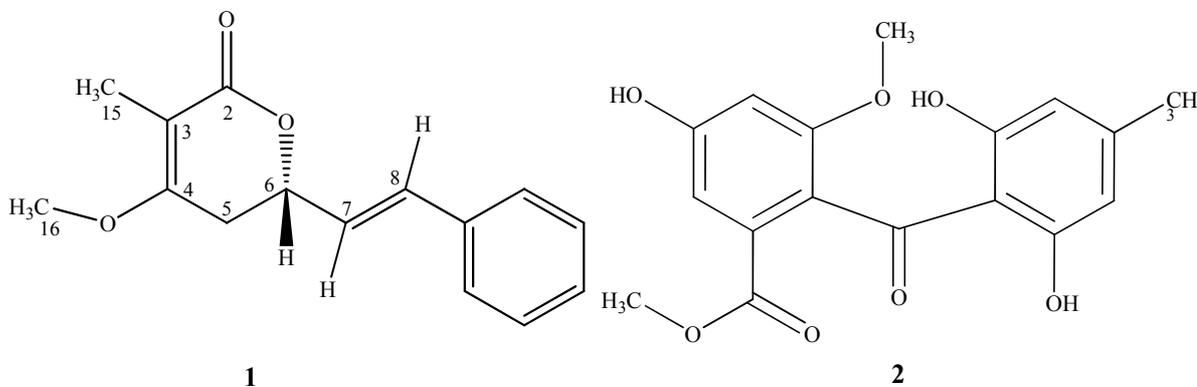
²Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

Электронная почта: yurchant@ya.ru

В настоящее время работами ученых многих стран показано, что морские микроскопические грибы являются перспективными источниками биоактивных соединений, отличающихся по химической структуре и биологическому действию от метаболитов наземных грибов^{1,2}.

В результате работ по поиску перспективных продуцентов биологически активных веществ среди морских микроскопических грибов, было установлено, что штаммы грибов *Penicillium glabrum* и *P. implicatum*, выделенные со стеблей и корневищ морской травы *Zostera marina*, собранной в заливе Петра Великого (Японское море), синтезируют соединения с антибактериальной активностью в отношении *Pseudomonas aeruginosa*.

Для получения метаболитов грибы культивировали на рисовой среде. С помощью колоночной хроматографии в различных системах из этилацетатных экстрактов грибов удалось выделить по 2 соединения. Методами одно- и двумерной ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения были установлены структуры двух выделенных соединений – 3-метил-4-метоксигониоталамина **1** и сулохрина **2**. Структура соединения **1** подтверждена методом рентгеноструктурного анализа. 3-метил-4-метоксигониоталамин оказался новым соединением, ближайшие структурные аналоги которого известны только для некоторых тропических растений. Сулохрин – ранее известное соединение³, но новое для *P. glabrum* и *P. implicatum*.



Под действием сулохрина в нетоксических концентрациях (0,1-100,0 μM) в клетках линии K562 усиливалась экспрессия белка Hsp70, осуществляющего защитные и шаперонные функции.

1. Wunder T., Marr J., Kremer S., Sterner O., Anke H. // Arch. Microbiol. 1997. V. 167. P. 310-314

2. Blunt J.W., Copp B.R., Hu W.-P., Munro M., Northcote P.T. Prinsep M.R. // Nat. Prod. Rep. 2008. V. 25. P. 35-94

3. Hargreaves J., Park J., Ghisalberti E.L., Sivasithamparam K., Skelton B.W., White A.H. // J. Nat. Prod. 2002. V. 65. P. 7-10

Трис-О-гликозид эхинохрома как возможный индуктор противоопухолевого иммунитета

Е.А.Юрченко¹, М.А.Михайлова², С.Г. Полоник¹, И.В.Гужова³, Б.А. Маргулис³

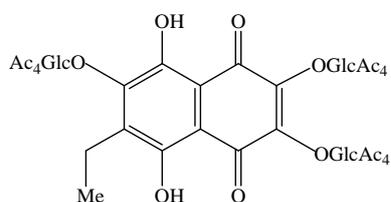
¹Тихоокеанский институт биоорганической химии, Дальневосточное отделение РАН

²Санкт-Петербургский государственный университет

³Институт цитологии РАН

Электронная почта: dminae@mail.ru

В начале 1990-х годов Прамуд Сривастава показал, что белок теплового шока Hsp70 при появлении его на поверхности клеток или выходе во внеклеточное пространство способен повышать иммуногенные свойства опухолей [1] за счет активации врожденного иммунитета [2]. При этом шаперон, который выходит на поверхность, может нести с собой те пептиды, которые были объектом его действия в момент индукции. Среди множества таких белков и пептидов, выносимых шапероном, могут быть пептиды, специфичные именно для опухолевых клеток, и в представляемой конформации они могут вызывать противоопухолевый иммунный ответ в организме. Один из способов инициировать экспрессию Hsp70 и его выход на поверхность клеток – использование химических соединений. Ранее было показано, что некоторые производные шиконина и эхинохрома вызывают накопление Hsp70 в клетках миелоидной эритролейкемии человека K562 и усиление его шаперонных свойств [3]. Целью нашей работы было определить возможность выхода Hsp70 на поверхность клеток эритролейкемии K562 под действием трис-О-гликозида эхинохрома (**1**) и оценить активность натуральных киллеров в отношении клеток K562, обработанных этим соединением.



1

С помощью иммунофлуоресцентной конфокальной микроскопии нам удалось зафиксировать появление Hsp70 на внешней мембране клеток K562. Клетки инкубировали с соединением **1** в течение 24 ч в обычных культуральных условиях (питательная среда RPMI1640, 10% эмбриональной коровьей сыворотки, 50 мкг/мл гентамицина, 37 °С, 5% CO₂), затем обрабатывали специфичными к Hsp70 антителами и вторичными антителами с флуоресцентной меткой. Более заметный эффект наблюдался при концентрации действующего вещества 1 μМ, чем при концентрации 0,1 μМ.

Цитотоксическую активность клеток натуральных киллеров, выделенных из селезенки мышей линии С3На, в отношении клеток K562, обработанных веществом **1** (0,5 μМ, 6 ч), в соотношении натуральных киллеров и клеток-мишеней 50:1, 25:1 и 5:1, соответственно, оценивали по активности лактатдегидрогеназы в инкубационной среде. При соотношении клеток 5:1 в контроле цитотоксическая активность натуральных киллеров составила 3±0,5%, в эксперименте - 10±1%. Это говорит о повышении активности клеток врожденного иммунитета по отношению к клеткам линии K562, обработанных соединением **1**.

Таким образом, трис-О-гликозид эхинохрома (**1**) может выступать как активатор врожденного противоопухолевого иммунитета за счет индукции экспрессии и выхода на поверхность клеток белка Hsp70.

1. Blachere N.E. et al. // J. Immunother. 1993. V. 14. P. 352-356.
2. Melendez K. et al. // Cell Stress Chaperones. 2006. V. 11. P. 334-42.
3. Еременко Е.М. и др. // Цитология. 2010. Т. 52. С. 235-241.

СОДЕРЖАНИЕ

№	Ф.И.О. авторов. Название тезиса	Стр.
1	Агапкина Ю.Ю., Зацепин Т.С., Готтих М.Б. Новый подход к терапии ВИЧ-1 на основе олигонуклеотидных ингибиторов интегразы	3
2	Астахов М.В. Характеристика популяции шримса-медвежонка из северо-восточной части залива Петра Великого Японского моря в осенне-зимний период	4
3	Атопкин Д.М. Молекулярно-генетические исследования трематод Дальнего Востока России: первые данные секвенирования рибосомальной ДНК	5
4	Бородин П.М., Башева Е.А., Дашкевич О.А., Торгашева А.А. Синапсис и рекомбинация хромосом у полевок трибы MICROTINI	6
5	Василенко А.А., Ковальчук С.Н., Булгаков А.А., Рассказов В.А. Получение рекомбинантного маннан-связывающего лектина дальневосточного трепанга <i>Apostichopus japonicus</i> и восстановление его субстратной активности	7
6	Витязев Ф.В., Головченко В.В., Михалева Н.Я., Оводова Р.Г. Выделение и химическая характеристика пектиновых полисахаридов из пищевых растений	8
7	Вищук О.С., Ермакова С.П., Звягинцева Т.Н. Сульфатированные полисахариды бурых водорослей <i>Saccharina japonica</i> и <i>Desmarestia viridis</i> : выделение, структурные характеристики и биологическая активность	9
8	Володько А.В., Давыдова В.Н. Растворимые комплексы хитозан-каррагинан	10
9	Гайворонская К.А., Герасименко А.В., Давидович Р.Л., Логвинова В.Б., Диденко Н.А. Синтез и строение гибридных органических – неорганических фтороциркконатов	11
10	Грачев А.А., Гербст А.Г., Карелин А.А., Яшунский Д.В., Цветков Ю.Е., Нифантьев Н.Э. Конформационное исследование олиго- β -(1 \rightarrow 3)-D-глюкозидов, структурно родственных основному полисахариду клеточной стенки патогенных грибов, включая <i>Candida</i> и <i>Aspergillus</i>	12
11	Грищенко О.В., Киселев К.В. Влияние трансформации геном <i>rolB</i> на экспрессию генов биосинтеза изофлавоноидов в культуре клеток Маакии амурской	13
12	Грищенко Ю.А., Данилевская А.В., Кузьменков К.С., Мансуров П.Т., Левченко Е.В. Оценка загрязнения морской среды органическими веществами по гидрохимическим показателям и методом биоиндикации по сообществу диатомовых водорослей эпифитона в прибрежной акватории Амурского залива	14
13	Демидкова Д.А., Имбс А.Б. Жирные кислоты и другие липиды кораллов охотоморского шельфа Курильских островов - молекулярное разнообразие и биологические маркеры	15
14	Димова М.А., Резникова С.В. Применение ингаляционной терапии на стационарном этапе реабилитации у больных хроническим бронхитом	16
15	Дышловой С. А., Фёдоров С. Н., Светашев В. И., Макарьёва Т. Н., Стоник В. А. Новые 1-О-алкилглицериды из морской губки <i>Guitarra</i>	17

	<i>abbotti</i> и их противоопухолевая активность	
16	Дюкалова М.Б. Картирование эпитопа, узнаваемого моноклональным антителом на ErbB-2, с помощью фаговой пептидной библиотеки	18
17	Ермакова С.П., Звягинцева Т.Н., Соколова Р.В. Полисахариды бурых водорослей <i>Sargassum</i> sp. и <i>Dictyopteris polipodioides</i> Средиземного моря	19
18	Есипов А.В., Горбач Т.А. Омега-3 жирные кислоты и здоровье человека. Текущее состояние проблемы. Изменение состава жирных кислот крови у пациентов с различными заболеваниями	20
19	Зелепуга Е.А., Табакмахер В.М., Монастырская М.М., Козловская Э.П. Структурные модели комплексов анальгетических полипептидов из актинии <i>H. crispa</i> с болевым ваниллоидным рецептором TRPV1	21
20	Зыкова М.В. Таксономический состав и распределение массовых видов бентосных фораминифер в бухте Житкова (о. Русский) залива Петра великого	22
21	Иванкин А.В., Колесникова Т.Д., Демаков С.А., Андреев О.В., Бильданова Е.Р., Андреев Н.Г., Жимулев И.Ф. Исследование структурно-функциональной организации политепных и митотических хромосом <i>Drosophila melanogaster</i> методом молекулярного комбинга	23
22	Иванкина Е.А., Загоскин М.В., Муха Д.В., Жимулёв И.Ф. Получение и первоначальная характеристика нормализованной библиотеки cDNA из 8-ми клеточного зародыша <i>Cyclops kolensis</i>	24
23		25
24	Каменев Д.Г., Веремейчик Г.Н., Шкрыль Ю.Н. Обнаружение гена силикатеина в стеклянных губках	26
25	Каретин Ю.А., Винникова В.В. Нелинейная морфометрия игл морских ежей сем. Strongylocentrotidae	27
26	Кокоулин М.С., Командрова Н.А., Исаков В.В., Томшич С.В., Романенко Л.А. Структурная характеристика О-специфического полисахарида морской бактерии <i>Halomonas halocynthiae</i> КММ 1376 ^T	28
27	Кондрашина А.С., Попов Р.С., Чикаловец И.В. Действие гипоосмотического и механического стрессов на адаптивные возможности мидии <i>Mytilus trossulus</i>	29
28	Кондрашина А.С., Черников О.В., Чикаловец И.В. Новый лектин из мидии <i>Mytilus trossulus</i>	30
29	Коротких А.В., Подсмаженко И.С. Применение петлевой эндартерэктомии при окклюзионных поражениях подвздошной артерии	31
30	Кравченко А.О., Барабанова А.О., Яковлева И.М., Ермак И.М. Химический анализ полисахаридов красной водоросли <i>Ahnfeltiopsis flabelliformis</i> (Rhodophyta, Phyllophoraceae)	32
31	Кравченко А.Ю. Филогенетические отношения видов рода <i>Pungitius</i> в северо-западной части Тихого океана	33
32	Кузьменков К.С., Левченко Е.В. Гидрохимическая оценка содержания органических веществ в морской воде Амурского залива в прибрежной акватории г. Владивостока	34
33	Лепешкин Ф.Д., Покровский О.И., Дроздов А.Л., Паренаго О.О., Лунин В.В. Сверхкритическая флюидная экстракция как метод извлечения биологически активных веществ из морского сырья	35

34	Ляхова И.А., Жидков М.Е., Дубовицкий С.В. Нетривиальное превращение морского алкалоида фаскаплизина в 12-бензоил-(пиридо[1,2-a; 3,4-b'] дииндол)	36
35	Маздыган Е.Р. Состав и распределение фауны пелагических остракод (OSTRACODA: HALOCYPRIDIDAE) в морях Дюрвиля, Сомова, Росса и прилегающих водах (Антарктика)	37
36	Мазейка А.Н., Костецкий Э.Я., Воробьева Н.С., Цыбульский А.В. Иммуностимулирующая активность липид-сапонинового наноносителя антигенов на основе кукумариозида A ₂ -2	38
37	Малашенкова А.В., Андин А.Н. Конденсация индиго с производными метиленактивных кислот	39
38	Манжуло И.В., Дюйзен И.В. Морфо-химическая характеристика вентральных отделов ретикулярной формации продолговатого мозга крысы в норме и при развитии болевой реакции	40
39	Мартыяс Е.А., Анисимов М.М., Скрипцова А.В. Противомикробная и гемолитическая активности экстрактов водорослей Дальневосточных морских акваторий	41
40	Марушенко И. Ю. Индивидуально-типологические особенности компонентного состава детей дошкольного возраста	42
41	Менчинская Е.С., Аминин Д.Л. Биологическая активность тритерпеновых гликозидов голотурий и их комплексов с холестерином	43
42	Моисеенко А.В. Аргинин – участие в метаболизме и регуляции жизненно-важных функций	44
43	Мурсалимов С.Р. Локализация активности фермента эндо-β-1,3-глюканазы в микроспорогенезе табака	45
44	Неведомская Н.Н. Гомоцистеин – новый фактор риска атеросклероза и тромбоза	46
45	Несмелов И.Б., Гнутова Р.В., Толкач В.Ф. Филогенетические реконструкции по гену 2b кукумовируса огуречной мозаики	47
46	Огурцова О.С., Дюйзен И.В. Гистология, нейрохимия и культивирование обкладочных нейроэпителиальных клеток крысы	48
47	Опра Д.П., Гнеденков С.В., Цветников А.К., Синебрюхов С.Л. Новые катодные материалы для литиевых источников тока	49
48	Пислягин Е.А., Аминин Д.Л. Взаимодействие тритерпеновых гликозидов голотурий кукумариозида A ₂ -2 и фрондозидов А с иммунокомпетентными и опухолевыми клетками мыши	50
49	Пирожкова Д.С., Смирнова О.Ю., Ильичев А.А., Карпенко Л.И., Сысоева Г.М. Создание рекомбинантного аттенуированного штамма сальмонеллы для направленной доставки ФНО-альфа к опухолевым клеткам	51
50	Подгорбунский А.Б., Синебрюхов С.Л., Усольцева Т.И., Гнеденков С.В. Ионная проводимость твердых электролитов на основе SnF ₂	52
51	Полякова Ю.О., Нестеренко А.Б. Влияние каннабиоидов на формирование и течение соматической патологии	53
52	Попкова П.А., Коленченко Е.А., Кумейко В.В. Получение низкомолекулярных производных пектина цитрусовых и анализ их молекулярных масс	54
53	Рожкован К.В., Челомина Г.Н. Несогласованность в эволюции рДНК осетровых рыб	55
54	Лаврентьева С.И., Терехова А.А. Влияние различных концентраций солей	56

	тяжелых металлов на морфологические показатели проростков сои	
55	Сабуцкий Ю.Е., Огурцов В.А. Синтез новых водорастворимых N-ацетилцистеинильных производных 1,2-дитиол-3-тиона(она) – потенциальных биологически активных соединений.	57
56	Савельева А.В., Даутов С.Ш. Ультроструктурное исследование аппендикулярии <i>Oikopleura gracilis</i> (Tunicata, Chordata) из залива Петра Великого	58
57	Сарин С.А., Силантьев В.Е., Постнова И.В., Щипунов Ю.А. Новая методика получения нанокompозитных и полимерных пленок на основе хитозана	59
58	Сейткалиева А.В., Мензорова Н.И., Рассказов В.А. Новая термолабильная щелочная фосфатаза из яйцеклеток морского ежа <i>Strongylocentrotus intermedius</i>	60
59	Сидельников А.О., Пискун С.И. Новые методы в лечении грыж: лапароскопическая герниопластика	61
60	Сидорова О.В., Чистюлин Д.К., Исаева М.П., Новикова О.Д. Получение мутантных OmpF поринов <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> с делециями наружных петель	62
61	Силантьев В.Е., Сарин С.А., Постнова И.В., Щипунов Ю.А. Формирование и исследование нанокompозитных плёнок на основе хитозана и наночастиц глины	63
62	Солдаткина О.А., Акимова Т.И. Алициклический 1,5,9 –трикетон - 2,5-бис[(2оксоциклогексил)метил]циклопентанон в реакции восстановительного аминирования (1).	64
63	Способ М.В. Электрофорез ферментов как метод генетического анализа в систематике морских блюдечек рода <i>Lottia</i>	65
64	Табакмахер К.М., Кузьмич А.С., Макарьева Т.Н. Получение новых двухголовых сфинголипидов из губки <i>Rhizochalina incrustata</i> и изучение их антилейкемической активности	66
65	Табакмахер К.М., Макарьева Т.Н. Ризохалин Е – новый минорный бифункциональный кетосфинголипид из губки <i>Rhizochalina incrustata</i>	67
66	Тарасюк Е.С., Целуйко С.С. Усовершенствованная «фарингеальная ловушка»	68
67	Тарбеева Д.В., Скрипцова А.В., Шевченко Н.М., Влияние стадии развития на содержание и моносахаридный состав полисахаридов бурых водорослей.	69
68	Ткачева Е. С., Еськов А. А., Лейченко Е. В., Исаева М. П., Монастыр-ная М. М., Козловская Э. П. Мультигенное семейство актинопоринов из актинии <i>Heteractis crispa</i> .	70
69	Торгашева Н.А. Исследование эксцизионной репарации оснований ДНК в эмбриональном развитии морского ежа <i>Strongylocentrotus intermedius</i>	71
70	Турленко А. В., Киселев К.В. Структура и экспрессия кальций зависимой протеинкиназы <i>PgCDPK1a</i> в корнях, листьях и клеточных культурах женшеня <i>Panax ginseng</i>	72
71	Тюнин А.П., Киселев К.В. Исследование биосинтеза резвератрола и экспрессии метилаз в клеточных культурах винограда амурского <i>Vitis amurensis</i> Rupr. при индуцируемом падении общего статуса метилирования ДНК	73

72	Удовенко А.А., Макаренко Н.В., Давидович Р.Л., Земнухова Л.А. Строение молекулярного комплексного соединения фторида сурьмы(III) с <i>L</i> -фенилаланином	74
73	Файзулина Н.М., Исаева М.П., Хоменко В.А., Соловьева Т.Ф Конструирование, клонирование и экспрессия рекомбинантного Skp <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	75
74	Храмова Д.С. Ингибирование протеолиза яичного овальбумина протеин- пектиновыми комплексами	76
75	Чайкина Е.Л., Олейникова Г.К., Анисимов М.М. Действие бацилломицина Д из <i>Bacillus subtilis</i> на проростки некоторых растений.	77
76	Чаусова В.Е., Гузев К.В., Зелепуга Е.А., Табакмахер В.М., Гладких И.Н., Лейченко Е.В., Козловская Э.П., Монастырская М.М., Исаева М.П. Комбинаторная библиотека RG-полипептидов со структурой Кунитц- типа из актинии <i>Heteractis crispa</i>	78
77	Шадрин Д.А., Браш Н.Г. Клиническая гипнотерапия	79
78	Шумакова О.А., Киселев К.В. Влияние кумаровой кислоты на экспрессию генов фенилаланин-аммиак-лиаз, стильбен синтаз и содержание резвератрола в культуре клеток <i>Vitis amurensis</i>	80
79	Шумакова О.А., Киселев К.В. Мутагенез генов растений при длительном культивировании клеток женьшеня <i>Panax ginseng</i>	81
80	Юрченко А.Н., Сметанина О.Ф. Ароматические метаболиты факультативных морских грибов рода <i>Penicillium</i> , ассоциированных с морской травой <i>Zostera marina</i>	82
81	Юрченко Е.А., Михайлова М.А., Полоник С.Г., Гужова И.В., Маргулис Б.А. Трис-О-глюкозид эхинохрома как возможный индуктор противоопухолевого иммунитета	83