

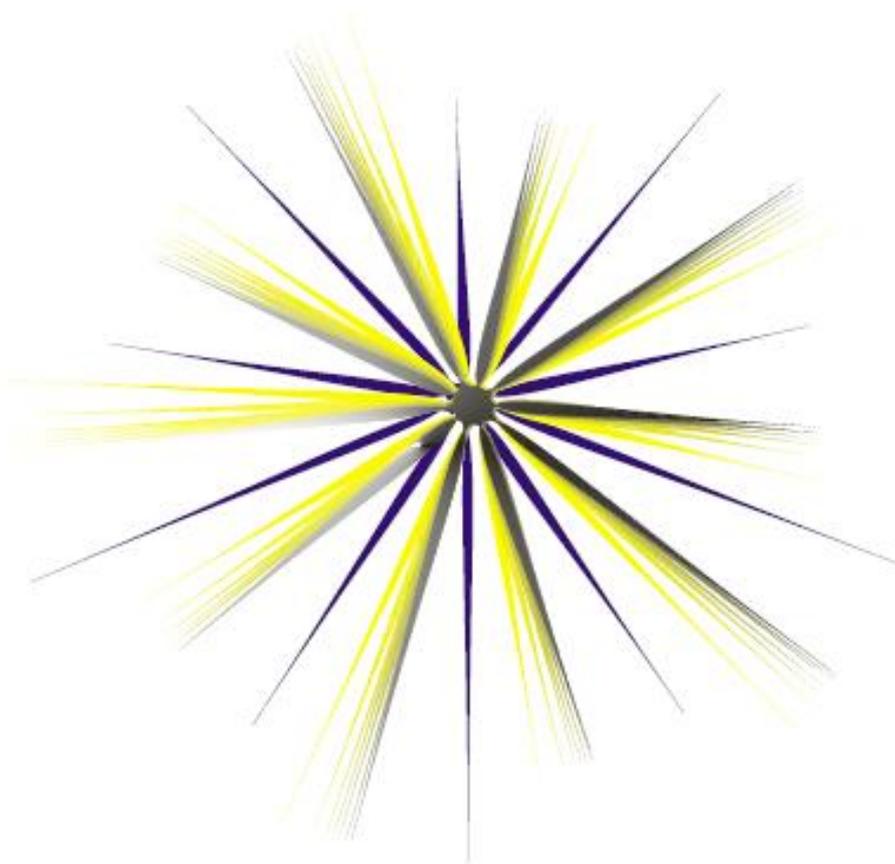


Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова
Дальневосточного отделения Российской академии наук

XVI ВСЕРОССИЙСКАЯ МОЛОДЁЖНАЯ ШКОЛА-КОНФЕРЕНЦИЯ
ПАМЯТИ В.Е. ВАСЬКОВСКОГО

Актуальные проблемы химии и биологии

МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ



4-9 сентября 2017 г.
Владивосток

Памяти Виктора Евгеньевича Васьковского посвящается



*Виктор Евгеньевич Васьковский
(фотография Л.Л. Макогина)*

Прекрасный солнечный день. Пирс водолазной станции ТИБОХ. Довольно далеко от берега сверкающая гладь моря вздымается бурунами. Зрелище завораживающее – как будто по затейливой траектории двигается сильное морское животное, периодически уходя на глубину. Время от времени над поверхностью возникает фонтанчик – так бывает, когда ныряльщик продувает трубку. Минут через 30 на берег выходит немолодой, но очень хорошо сложенный подтянутый человек – и это Виктор Евгеньевич Васьковский. В ту пору ему уже было 68 лет. Любовь к морю и подводному плаванию сыграла в его судьбе очень важную роль...

Виктор Евгеньевич родился в городе Артеме в семье одного из руководителей угольной промышленности Приморского края. Учился в средней школе № 9 города Владивостока, а завершил школьное обучение в одной из известных школ Подмосквья – «телешевской гимназии» в Малаховке.

После школы он стал студентом химического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, с отличием окончив который в 1958 году, поступил в аспирантуру Института химии природных соединений АН СССР в Москве. Это был знаменитый «Несмеяновский набор», получивший своё название по имени академика Александра Николаевича Несмеянова, выдающегося химика-органика, бывшего в те годы Президентом Академии наук СССР. Работал Виктор Евгеньевич в лаборатории будущего академика Николая Константиновича Кочеткова, бывшего тогда заместителем директора этого института. Вместе с другими сотрудниками и аспирантами Кочеткова Васьковский оказался в составе известной лаборатории химии углеводов и нуклеотидов Института химии природных соединений, что было везением. Ныне эта лаборатория называется лабораторией химии углеводов Института органической химии им Н.Д. Зелинского. В ней он работал вместе с начинающими, а в будущем именитыми российскими учёными Олегом Сергеевичем Чижовым, Леоном Владимировичем Бакиновским, Анатолием Ивановичем Усовым и многими другими достойными людьми, немало сделавшими для советской, а затем и российской науки. О первых годах этой лаборатории, очень интересно рассказано в воспоминаниях самого Виктора Евгеньевича и многих его друзей и коллег в книге «Лаборатория химии и углеводов и нуклеотидов ИХПС АН СССР. Лаборатория химии углеводов ИОХ РАН. 50 лет», изданной в Москве в 2009 году. В этой книге В.Е. Васьковский упоминается очень часто с неизменной к нему симпатией.

Вообще в жизни Виктору Евгеньевичу очень везло на встречи с замечательными людьми: учителя – ученые с мировыми именами, однокурсники - ставшие известными учеными, именитые коллеги по библиотечному совету. Очень важной была встреча с Юджином Гарфилдом из Института научной информации (США), ставшего

основателем системы Science Citation Index. В 1979 году Виктор Евгеньевич пригласил Гарфилда для участия в XIV Тихоокеанском конгрессе и проехал с ним поездом по транссибирской магистрали от Москвы до Хабаровска. За время поездки они подружились, их дружба продолжалась вплоть до ухода Виктора Евгеньевича. Для гостя это путешествие навсегда осталось одним из самых памятных событий в жизни, о чем он написал в своем соболезновании. Благодаря этой дружбе, упорству и целеустремленности Виктора Евгеньевича мы сейчас имеем возможность использования «Science Citation Index» и других изданий Института научной информации в научных библиотеках ДВО. Трудно переоценить вклад Виктора Евгеньевича в это чрезвычайно важное дело.

Учась на Химфаке, Виктор Евгеньевич думал о возвращении в Приморье. Важную роль в осуществлении такого решения сыграло то, что в 1959 году из Москвы во Владивосток переехал Георгий Борисович Еляков – выпускник кафедры химии гетероциклических соединений МГУ, будущий академик, председатель Дальневосточного отделения РАН и вице-президент РАН. В 1964 году Е.Б. Еляков стал директором–организатором Института биологически активных веществ (ИнБАВ) Сибирского отделения АН СССР. Практически в те дни, когда состоялось официальное открытие ИнБАВ, Виктор Евгеньевич приехал во Владивосток и сразу был принят на работу в институт, где организовал лабораторию химии флоры и фауны моря.

Вот здесь и пригодились ему навыки, приобретенные ещё во время учёбы в аспирантуре, когда он увлекся подводным плаванием, стал членом секции подводного плавания Спортивного клуба Академии наук СССР. Секция поддерживала тесные отношения с кафедрой зоологии беспозвоночных МГУ, которую возглавлял академик Л.А. Зенкевич. Лев Александрович поддержал идею молодого учёного заняться биохимией этой группы морских организмов. Каждое лето члены секции подводников



*В.Е. Васьюковский и Ю.С. Оводов
перед погружением*

СКАН выезжали вместе с сотрудниками кафедры на Беломорскую биологическую станцию МГУ, где заготавливали биологический материал для летней практики биологов и консервировали его для зимних практикумов. Первые же погружения в Белом море изменили научные планы В.Е. Васьюковского. Химия и биохимия морских организмов – вот чем нужно заниматься в Приморье! Работа в библиотеках Москвы в течение последующих двух с лишним лет утвердила его в правильности этой идеи. Во Владивосток он приехал с уже проработанными планами исследований.

В свои неполные тридцать лет Виктор Евгеньевич стал не только заведующим лабораторией, но и заместителем директора ИнБАВа по науке. В эти, теперь уже легендарные для нынешних сотрудников института времена, он во многом определил научную тематику начинавшихся на Дальнем Востоке исследований, уделяя большое внимание подготовке научных кадров. С 1970 года он стал читать лекции по биохимии студентам Дальневосточного государственного университета. В то время, один за

другим в институт приходили молодые выпускники химического факультета, главным образом с кафедры органической химии. Большую группу будущих сотрудников дал и физический факультет. Начинали свою работу в стенах института и некоторые выпускники Владивостокского Медицинского института, биофака ДВГУ и других университетов из Новосибирска, Ростова-на-Дону, Ленинграда. Приезжали друзья и коллеги из Москвы, а некоторые из них переезжали во Владивосток на постоянную работу, например, Николай Васильевич Молодцов с семьёй. Постепенно формировался состав первого поколения учёных будущего Тихоокеанского института биоорганической химии (такое название институт получил в 1972 году).

В 1965 году возникла необходимость создания Морской экспериментальной станции (МЭС), и Виктор Евгеньевич был в числе тех немногих людей, которые остановили свой выбор именно на побережье бухты Троицы Хасанского района Приморского края. Здесь и была создана МЭС, в обустройстве и развитии которой Виктор Евгеньевич принимал деятельное участие. Во время создания МЭС проявился не только научный и организаторский талант Васьковского, но и многие его хорошие человеческие качества. На любой работе он проявлял ответственное отношение к делу и способность объединять людей для решения важных задач. В нём было что-то от лучших комиссаров военных времен – он увлекал личным примером – «делай как я», не боялся никаких трудностей, неудобств, нехватки самого необходимого, находил выход из самых трудных ситуаций. Он был первым в любом деле: в лаборатории, на строительстве стационарных сооружений, на посадке картошки для столовой, на сборах морских организмов в разных бухтах края, в организации соревнований по водному поло.

На конец 60-х и начало 70-х годов пришлись знаменитые во всём мире исследования морских липидов В.Е. Васьковским и его сотрудниками. Несколько работ Виктора Евгеньевича того периода были признаны Институтом научной информации (Филадельфия, США) «классикой цитирования». Им и его первым аспирантом (ныне профессором) Э.Я. Костецким был разработан реагент, позволявший обнаруживать фосфолипиды на тонкослойных хроматограммах. С тех пор этот реагент (т.н. реагент Васьковского) используют липидологи в самых разных странах. Кроме того, изучая биологический материал, собранный на морской станции, удалось получить принципиально новые результаты, в частности понять закономерности распределения основных классов липидов, жирных кислот и ферментов, их метаболизма в различных таксономических группах морских организмов. По широте охвата объектов и опубликованным результатам эти исследования до сих пор не имеют равных в мировой науке.

Ещё одним значимым этапом в жизни Виктора Евгеньевича стало назначение его на высокую должность главного учёного секретаря только что созданного Дальневосточного научного центра. Он был приглашён на эту должность в 1971 году и проработал три года. Следует заметить, что ДВНЦ был создан только в октябре 1970 года. В.Е. Васьковский активно участвовал в большой работе по созданию новых институтов, укреплению структуры Центра. Именно в этот период были образованы такие крупные институты как Тихоокеанский океанологический, Автоматики и процессов управления, Биологии моря, Географии и другие.

В 1974 году Виктор Евгеньевич перешёл на работу в Институт биологии моря ДВНЦ РАН, где организовал и возглавил лабораторию сравнительной биохимии. В

1985 году он защитил докторскую диссертацию, посвящённую исследованию биохимии липидов морских организмов. Продолжая начатые в ИнБАВе исследования морских липидов, он подготовил большую группу высококвалифицированных специалистов, а всего им подготовлено более 20 кандидатов наук, 6 из них стали докторами наук. У Виктора Евгеньевича много учеников, работающих не только в России, но и в других странах.

На протяжении многих лет научные интересы В.Е. Васьковского были сосредоточены на исследованиях липидов из морских организмов и наземных растений, а также проблемах научной информации. Им опубликовано более 100 статей, среди которых, как минимум, пять цитировались более 100 раз. В 10 авторских свидетельствах и патентах даны сведения о разработках прикладной направленности. Наибольшую известность в нашей стране и мире В.Е. Васьковскому принесли работы по микрометодам анализа липидов, в особенности с помощью высокоэффективной тонкослойной хроматографии. Много лет он входил в состав редколлегии научного журнала «Биология моря». Был членом редакционного совета «Web of Science».

В 1995 году Виктор Евгеньевич вернулся в ТИБОХ ДВО РАН на должность заведующего Отделом молекулярной иммунологии, а в 2000 году был избран членом-корреспондентом РАН, что стало официальным признанием его роли ведущего липидолога России, затем он стал советником РАН.

Все эти годы он вел большую педагогическую работу и внес огромный вклад в повышение квалификации молодых учёных, студентов и аспирантов. В 1996 году Виктор Евгеньевич был одним из инициаторов создания Отделения биоорганической химии и биотехнологии и принимал активное участие в его работе. Виктор Евгеньевич утвердил в УМО МГУ уникальную учебную программу Отделения, сочетавшую основательные химические курсы с рядом биологических дисциплин, привлёк для работы в Отделении высококвалифицированных биологов. Вместе с другими сотрудниками ТИБОХ Виктор Евгеньевич организовал проведение на МЭС учебной и технологической практик студентов Отделения. Он сам нырял и доставал для этих занятий разнообразную морскую живность. И надо было видеть восторженные лица студентов, когда он увлеченно и очень интересно рассказывал им о добытых биологических образцах. Он заражал молодых своим энтузиазмом и жадой познания. Много он сделал и для того, чтобы на Отделении сложился хороший психологический климат, атмосфера взаимного уважения, традиции поддержки младших старшими.

Виктор Евгеньевич всегда считал, что студенческая жизнь воспитывает умение работать в коллективе, которое необходимо в любой сфере человеческой деятельности. Одной из замечательных воплощенных идей В.Е. стали ежегодные встречи студентов и выпускников Отделения со своими учителями и наставниками в непринужденной обстановке, которые по-прежнему проводятся в ТИБОХ и очень способствуют сплочению коллектива. Это мероприятие по традиции завершается чаепитием и конкурсом тортиков, которые с удивительным мастерством и фантазией готовят сами студенты - ведь химический эксперимент сродни поварскому искусству. В.Е. гордился своими студентами и сам становился моложе, общаясь с ними.

Виктор Евгеньевич был сторонником тесного сотрудничества университета и академической науки в деле подготовки квалифицированных молодых учёных и преподавателей. При его активном участии были подготовлены заявки на выполнение ряда грантов по Федеральной целевой программе «Интеграция», возглавляемой в то

время академиком Владимиром Павловичем Шориным. Велика его роль и в создании в ДВГУ научно-образовательного центра «Морская биота». Профессор Васьковский читал спецкурс «Липиды», а также курс лекций «Основы биохимии» для студентов-химиков ДВФУ. Кроме того, им разработан раздел спецкурса «Информационная культура химика».

С возвращением Виктора Евгеньевича в ТИБОХ произошло и возрождение школ молодых учёных, которые проводились на МЭС с начала 80-х годов. В эти годы научная жизнь на морской станции была очень активной, а работавшие на ней группы учёных из разных городов страны сменяли одна другую. Многие из гостей читали лекции для молодых сотрудников, проводили практические занятия. С начала 2000-х годов во многом усилиями Виктора Евгеньевича проведение школ молодых учёных и аспирантов не только возобновилось, но эти школы постепенно переросли уровень региональных мероприятий, приобрели широкую известность. Сейчас это всероссийские школы-конференции по актуальным проблемам химии и биологии, в которых участвуют молодые учёные всех краёв и областей Дальнего Востока, приезжают сюда и коллеги из Москвы, Красноярска, других городов, а для чтения лекций приглашаются ведущие российские и зарубежные учёные. Последняя из школ-конференций имела четырнадцатый порядковый номер.



На Конференции в Медобъединении ДВО РАН, 2005

и педагогическую деятельность он отмечен несколькими государственными наградами Российской Федерации: орденом «Знак Почёта», юбилейной медалью «За доблестный труд, в ознаменование 100-летия со дня рождения Владимира Ильича Ленина», медалью «За трудовое отличие», удостоен Почётного звания «Заслуженный деятель науки».

Виктор Евгеньевич мужественно боролся с болезнью и работал до последнего дня: просматривал новые публикации, писал отзывы на научные статьи, вел постоянную переписку, общался по телефону с коллегами и учениками. Он не мыслил своей жизни без активной работы, потому что принадлежал к поколению, для которого главным было приобретение знаний, а не материальных ценностей. Упорное стремление к самообразованию, постижению и созиданию нового, к просветительству и улучшению окружающей действительности – вот самое важное в жизни истинного интеллигента и ученого, каким был Виктор Евгеньевич Васьковский.

Тесное сотрудничество связывало Виктора Евгеньевича с Медицинским объединением ДВО РАН. Долгие годы он был председателем по проблемам медицины Межведомственного совета ДВО РАН и много сделал для успешного развития совместных научных исследований ТИБОХ и МО.

Виктор Евгеньевич много сделал для российской науки и образования. За свою научную

Председатель Оргкомитета

Стоник Валентин Аронович, академик РАН, д.х.н.,
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток;

Програмный комитет

Ермак Ирина Михайловна, д.х.н.,
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток;

Кусайкин Михаил Игоревич, к.б.н., доцент,
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток;

Лукиянов Павел Александрович, д.х.н., профессор,
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток;

Терехова Тамара Александровна, к.б.н.,
Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

Усов Анатолий Иванович, д.х.н., профессор,
Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва;

Локальный комитет

Володько Александра Викторовна, к.х.н.
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток

Кокоулин Максим Сергеевич, к.х.н.,
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток

Организатор XVI Всероссийской молодёжной школы-конференции по актуальным проблемам химии и биологии Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН



Мероприятие проведено при финансовой поддержке:
Российского фонда фундаментальных исследований
(проект № 17-04-20441)



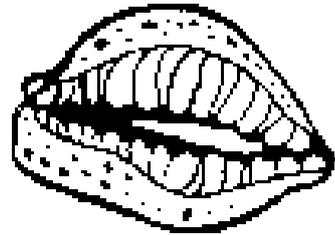
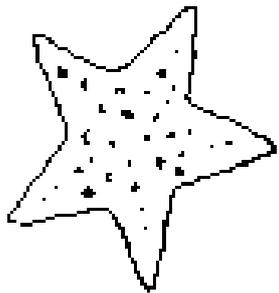
СОДЕРЖАНИЕ

Пленарные доклады	12
<i>М. Кауцка, Р. Солдатов, П. Харченко, И. Адамейко</i>	
Реконструкция гетерогенности живых организмов методами транскриптомики индивидуальных клеток	13
<i>Е.А. Бородин</i>	14
Персонафицированная медицина	
<i>Е.Е. Воронежская, М.Ю. Хабарова, Т.А. Чернов</i>	
Химическая коммуникация «взрослый-зародыш» у трохофорных животных: феномен, клеточные и молекулярные механизмы, сигнальная молекула	15
<i>А.Л. Дроздов</i>	16
Анаэробный метаболизм многоклеточных животных	
<i>А.С. Иванов</i>	17
Экспериментальные подходы в белковой интерактомике	
<i>П.А. Лукьянов, В. Ли, С. У</i>	18
Уникальные углевод-связывающие белки пропеллерного типа	
<i>С.А. Недоспасов</i>	19
Прямая и обратная генетика и функции цитокинов	
<i>Э.В. Некрасов</i>	20
Гликолипиды растений: структура, анализ, функции и практическое использование	
<i>Н.А. Одинцова</i>	21
Культуры клеток морских гидробионтов	
<i>В.И. Светашев</i>	22
Биохимия липидов морских организмов: методические подходы и результаты	
<i>Э.А. Титлянов, Т.В. Титлянова, О.С. Белоус</i>	
Морские растения морей Азиатско-Тихоокеанского региона в традиционной и современной медицине	23
<i>А.И. Усов</i>	24
Проблемы и достижения в структурном анализе сульфатированных полисахаридов	
Устные доклады	25
<i>А.А. Белик, Т.Н. Звягинцева</i>	
Анализ гидролитических и трансгликозилирующих свойств рекомбинантной эндо-1,3-β-D-глюканазы из морской бактерии <i>Formosa algae</i> КММ 3553: субстратная специфичность и условия реакции	26
<i>К.В. Белокозова, Р.В. Усольцева, С.Д. Анастюк</i>	
Масс-спектрометрия фрагментов фукоиданов из бурых водорослей <i>Sargassum duplicatum</i> и <i>Padina boryana</i>	27
<i>А.В. Володько, Н.П. Мищенко, И.М. Ермак</i>	
Полиэлектролитные комплексы хитозан-каррагинан как носители лекарственных средств	28
<i>В.А. Гарипова, А.С. Гирич, И.Ю. Долматов</i>	
Анализ транскриптов и экспрессии генов <i>vasa</i> и <i>runt</i> при регенерации у голотурии <i>Eupentacta fraudatrix</i>	29
<i>В.А. Дячук</i>	30
Пластичность глиальных клеток-предшественников в развитии зебрафиш <i>Danio rerio</i>	
<i>Е.В. Иванец, С.А. Дышловой, А.Н. Юрченко</i>	
Новые биологически активные метаболиты из факультативного морского гриба <i>Aspergillus candidus</i> КММ 4676	31

А.А. Калитник, Э.И. Чичинская, А. О. Кравченко, Ю.А. Каретин, И.М. Ермак Иммунотропные эффекты каппа/бета-каррагинана	32
А.А. Касимова, Н.П. Арбатский, А.С. Шапков, М.М. Шнайдер, А.В. Попова, Ю.А. Книрель Капсульные полисахариды антибиотикоустойчивых бактерий <i>Acinetobacter baumannii</i> : строение и расщепление бактериофагами	33
М.С. Кокоулин, Е.В. Соколова, Л.А. Романенко, Ю.Н. Елькин, Н.А. Командрова Липополисахариды морских бактерий рода <i>Pseudomonas</i>	34
Т.О. Мизгина, И.В. Чикаловец, В.И. Молчанова, О.В. Черников Лектин из двустворчатого моллюска <i>Glycymeris yessoensis</i>	35
В.А. Миличко Методы визуализации и управления состояниями единичных молекул	36
Д.Н. Пелагеев, С.А. Дышловой, К.С. Борисова, Н.Д. Похило Синтез и противоопухолевая активность О-углеводных конъюгатов 1,4-нафтохинонов негликозидной природы	37
О.А. Розенцвет, В.Н. Нестеров, Е.С. Богданова Биохимические аспекты солеустойчивости галофитов	38
Е.С. Рубцов, М.С. Кокоулин, А.С. Кузьмич, Л.А. Романенко, Н.А. Командрова Структура О-специфических полисахаридов морских альфапротеобактерий <i>Poseidonocella pacifica</i> КММ 9010 ^T и <i>P. sedimentorum</i> КММ 9023 ^T . Противоопухолевая активность О-дезацелированного липополисахарида <i>P. pacifica</i> КММ 9010 ^T	39
М.Г. Смирнова, Л.И. Соколова, Н.П. Шапкин Концентрирование антибиотиков цефалоспоринового ряда в динамических условиях с применением сорбентов на основе природных алюмосиликатов	40
В.В. Суриц, Р.В. Усольцева, Н.М. Шевченко, С.И. Иванникова, С.П. Ермакова Структура и противоопухолевая активность фукоидана из бурой водоросли <i>Sargassum duplicatum</i>	41
К.М. Табакмахер, Т.Н. Макарьева, Р.С. Попов, А.С. Кузьмич Нормонанхоцидины G и H – новые пентациклические гуанидиновые алкалоиды из дальневосточной губки <i>Monanchora pulchra</i>	42
В.А. Терехова, О.С. Якименко, Е.В. Федосеева, С.В. Пацаева, К.А. Кыдралиева Гуминовые вещества в медицине и экологии: возможности и проблемы применения	43
Стендовые доклады	44
К.И. Бичахчян GPS-система мозга человека	45
В.В. Бондаренко Особенности иерсиниозов во Владивостоке	46
Т.Ю. Орлова, О.Г. Борзых, А.А. Зинов, Т.В. Морозова Ресурсная коллекция «Морской биобанк» ННЦМБ ДВО РАН	47
Я.А. Васильев, П.Е. Бородин 3D-модель хантингтина	48
В.С. Гоголева, К.-С.Н. Атретханы, М.А. Носенко, С.А. Недоспасов, М.С. Друцкая Системная блокировка TNF приводит к уменьшению метастазирования МСА 205 фибросаркомы <i>in vivo</i>	49
А.И. Дегтяренко, Ю.Н. Шкрыль Регуляция биосинтеза бетаина в клеточных культурах и растениях <i>Panax ginseng</i> под действием внешних факторов и гетерологичной экспрессии гена <i>LiBANMT</i>	50

А.И. Еськова, Л.С. Бузолева Биопленкообразование <i>Listeria Monocytogenes</i> с микроорганизмами, выделенными из пищеварительного тракта Мидии Грея (<i>Grenomytilus Grayanus</i>)	51
А.Е. Закирова, Г.Н. Лихацкая, Н.Ю. Ким, И.Г. Агафонова, В.Ф. Ануфриев Взаимодействие кардиопротектора эхинохрома А и его аналога с альбумином	52
А.П. Калиновский, К.В. Гузев, М.П. Исаева Разработка подходов для генетической идентификации морских губок из спиртовых и высушенных образцов	53
А.Н. Кветкина, Е.А. Юрченко, Е.А. Пислягин, Е.В. Лейченко, М.П. Исаева, Э.П. Козловская Новый IQ-пептид Кунитц-типа актинии <i>Heteractis magnifica</i> , проявляющий нейтропротекторную активность в модели болезни Альцгеймера	54
А.М. Клименко, Д.В. Тарбеева, С.А. Федорев Подавление активности сигнального пути wnt в клетках трижды отрицательного рака молочной железы различными фракциями экстракта виноградовника японского <i>Ampelopsis japonica</i>	55
Д.С. Кузнецова, П.С. Тимашев, А.В. Королева, Б.Н. Чичков, В.Н. Баграташвили, Е.В. Загайнова <i>In vivo</i> изучение скорости биодеградации биомиметических тканеинженерных конструкций	56
Д.С. Махазен, Ю.Н. Шкрыль, В.П. Булгаков Новый способ активации вторичного метаболизма в растительных клетках за счет ингибирования экспрессии генов <i>JAZ</i> с помощью РНК интерференции	57
Е.М. Минько, С.Г. Полоник, Е.А. Юрченко Исследование Hsp70-индуцирующей активности структурных аналогов 2,3,7-трис(тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозил)-6-этил-5,8-дигидрокси-1,4-нафтохинона (U-133)	58
Н.Н. Нитяговский, К.В. Киселев, А.П. Тюнин Влияние повторной генетической трансформации геном <i>2b</i> из вируса огуречной мозаики CMV на экспрессию трансгена в длительно культивируемой культуре амурского винограда <i>Vitis amurensis</i> Rupr.	59
А.Л. Обухова, Е.Г. Ивашкин, М.Ю. Хабарова, Е.Е. Воронежская Стабильная серотонинергическая и вариабельная дофаминергическая нервная система: морфологическая основа для оптимальной стратегии расселения личинок морских ежей	60
Ю.С. Овчаренко, Т.О. Мизгина, И.В. Чикаловец, В.И. Молчанова, В.В. Куриленко, О.В. Черников Лектин из гребешка <i>Ratinopecten yessoensis</i>	61
Е.В. Омелич Противовоспалительная активность конъюгатов β-циклодекстринов с ибупрофеном	62
А.Л. Пономарева, Л.С. Бузолева Влияние абиотические факторы внешней среды, на биопленкообразование патогенных бактерий	63
А.Б. Самбур, Л.И. Соколова, Е.М. Чудовская Выделение фторхинолоновых антибиотиков из образцов крови методом жидкость – жидкостной экстракции	64
М.А. Сидорова, М.Е. Жидков, И.А. Ляхова Применение алкалоида фаскаплизин и его производных для получения родственных природных соединений	65

А.П. Фильштейн, И.В. Чикаловец Изучение лектина из мидии <i>Mytilus trossulus</i>	66
М.Ю. Хабарова, Е.Е. Воронежская Медиаторные механизмы и адаптационное значение циклических изменений в темпах развития и реализации поведенческих программ у пресноводных моллюсков	67
Е.А. Хмелевская, Ю.Е. Сабуцкий, С.А. Дышловой, Д.Н. Пелагеев Синтез и противоопухолевая активность S-углеводных конъюгатов 1,4-нафтохинонов негликозидной природы	68
Л.А. Шелихан Введение папоротника <i>Matteuccia struthiopteris</i> (L.) Tod. в культуру <i>in vitro</i> : выбор условий дезинфекции спор	69
Ю.А. Югай, Т.В. Авраменко, Ю.Н. Шкрыль Антибактериальный эффект наночастиц серебра в культурах клеток растений	70
Авторский указатель	71



Пленарные доклады



Реконструкция гетерогенности живых организмов методами транскриптомики индивидуальных клеток

М. Кауцка¹, Р. Солдатов², П. Харченко², И. Адамейко¹

¹Департамент физиологии и фармакологии, Каролинский институт, Стокгольм, Швеция

²Департамент биомедицинской информатики, Медицинская школа Гарварда, Бостон, США

Электронная почта: igor.adameyko@ki.se

Все мы вышли из моря. Зарождение жизни, как и многоклеточности, в водной среде стало основным трансформирующим фактором на поверхности нашей планеты. Это также явилось следствием того, что живые организмы выработали возможность принимать решения на многих уровнях: клеточном, тканевом, организменном и даже над-организменном. Мы выдвинули гипотезу, что клетка, как элементарная единица живого, принимает ряд переключаемых и вычисляемых дискретных состояний относительно фаз клеточного цикла, физиологической роли в организме, метаболического статуса. Число таких дискретных состояний специфично для каждого клеточного типа. Если это так, то совершенно непонятно, как устроен клеточный интегратор принятия многих решений. Используя методы транскриптомики индивидуальных клеток, мы проанализировали множественные состояния клеток в момент выбора пути дифференцировки в линии мультипотентных клеток нервного гребня. Наши результаты показали, что слабое раннее разнообразие в клеточных популяциях колоссально влияет на организацию и конкуренцию генных регуляторных сетей на более поздних стадиях выбора клеточной судьбы, что, по-видимому, служит основой создания баланса судеб без ущерба для конкретных результирующих клеточных типов.

Персонафицированная медицина

Е.А. Бородин

Амурская государственная медицинская академия МЗ России, Благовещенск

Электронная почта: borodin54@mail.ru

Исторически сложились две философские концепции медицины. В основе первой, уходящей своими корнями в древние времена, лежит холистический взгляд на природу человека. Организм человека - это единое целое, лечить нужно не болезнь, а больного (Гиппократ, М.Я. Мудров Н.И. Пирогов, С.П. Боткин, восточная медицина). Вторая концепция, зародившаяся в 19 веке и доминирующая в современной медицине, требует всегда найти материальный субстрат болезни (Рудольф Вирхов, клеточная теория патологии). Бурный прогресс в области биологии в 20 веке неузнаваемо изменил медицину. Причина болезни сегодня видится даже не повреждении клеток, а в молекулярных дефектах, возникающих в результате нарушения генетического аппарата клетки (Лайнус Поллинг, концепция молекулярных болезней). Фактически предлагается лечить даже не болезнь, а дефекты молекул. Задача медицины видится в подборе лекарственных средств, способных устранить имеющийся молекулярный дефект (таргетная медицина). На основе концепции доказательной медицины разработана система стандартов оказания медицинской помощи, в которой индивидуальности больного отводится весьма незначительное место. Тем не менее, именно новейшие достижения молекулярной биологии, реализация проекта «Геном человека», позволяют объединить две, казалось бы, непримиримые философские концепции медицины. Да, болезнь имеет материальный субстрат. В основе происхождения заболеваний лежат весьма конкретные изменения клеток и макромолекул, но именно уникальные особенности каждого человека определяют возможность возникновения у него того или иного заболевания, эффективность того или иного лекарства.

99,9% генов одинаковы у всех людей. Индивидуальные особенности каждого из нас получили название генетического полиморфизма, определяемого всего лишь 0,1% генов и проявляющегося в виде полиморфизма единичного нуклеотида, полиморфизма длины рестриционных фрагментов, коротких tandemных повторов и др. Обусловленная созданием высокоэффективных методов секвенирования нового поколения возможность прочтения индивидуальных геномов вносит индивидуальный подход к лечению и профилактике заболеваний человека и является фундаментальной основой персонафицированной медицины, учитывающей особенностей геномов отдельных людей, определяющих склонность человека к развитию у него той или иной болезни. На основе анализа генетических полиморфизмов возможно создание генетического паспорта, представляющего собой индивидуальную базу ДНК данных, которая отражает уникальные генетические особенности каждого человека, его предрасположенность к тем или иным наследственным, мультифакторным и другим заболеваниям. Персонафицированная медицина позволяет оценивать предрасположенность индивидуума к социально значимым заболеваниям, вырабатывать индивидуальный профиль приема лекарственных препаратов, осуществлять раннюю диагностику заболеваний и их профилактику, проводить лечение генами.

В лекции будут рассмотрены фундаментальные основы персонафицированной медицины, итоги реализации проекта «Геном человека», принципы методов секвенирования нового поколения, основные виды генетического полиморфизма, методы их исследования и связь с возникновением некоторых заболеваний, а также будут представлены собственные результаты использования метода пиросеквенирования для диагностики болезней печени (синдром Жильбера) и биоинформатической характеристики белков нервной ткани (хантигтина, реелина и TRP-рецепторов), вовлеченных в развитие нейродегенеративных заболеваний, (выравнивание последовательностей и 3D-структур, моделирование 3D-структур) и растительных ингибиторов протеаз семейства серпинов, которые могут послужить основой нового лекарственного препарата, предназначенного для коррекции процессов свертывания крови и фибринолиза.

Химическая коммуникация «взрослый-зародыш» у трохофорных животных: феномен, клеточные и молекулярные механизмы, сигнальная молекула

Е.Е. Воронежская, М.Ю. Хабарова, Т.А. Чернов
 Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва
 Электронная почта: lenavor@gmail.com

Практически все трохофорные и не трохофорные животные имеют сложный жизненный цикл, с одной или несколькими личиночными стадиями, предвещающими формирование ювенильных и взрослых особей. Эволюционное значение такого разделения на фазы, занимающие различные экологические ниши, является классическим примером адаптации, т.к. позволяет каждой из стадий оптимально приспособиться к собственным внешним условиям, обеспечивая лучшую выживаемость и расселение вида в целом. До недавнего времени считалось, что при би- или полифазном цикле взрослые особи не оказывают существенного влияния на прохождение личиночных стадий. Описано лишь два феномена такой химической коммуникации: индукция метаморфоза и оседания у морских беспозвоночных [1] и формирование дауровской личинки у нематод [2]. Мы обнаружили третий феномен коммуникации «взрослый-зародыш», когда при неблагоприятных условиях взрослые особи выделяют химический сигнал, модулирующий темпы развития и проявление моторных программ у личинок и ювенильных особей [3,4]. В докладе обобщены данные последних десяти лет исследований, посвященных встречаемости обнаруженного феномена в разных группах водных беспозвоночных, раскрытию клеточных и молекулярных механизмов, лежащих в основе тонких адаптационных перестроек личиночного развития, установлению структуры активной сигнальной молекулы.

Основная часть работ была выполнена на модельных пресноводных брюхоногих моллюсках *Lymnaea stagnalis* и *Helisoma trivolvis*. Специфичность фактора проверялась на спектре пресноводных и морских брюхоногих моллюсков. Широта представленности феномена регуляции «взрослый-зародыш» тестировалась на брюхоногих моллюсках, полихете *Platynereis dumerilii* и морском еже *Strongylocentrotus nudus*. Определялся характер модуляции темпов развития (замедление или ускорение), медиаторная специфичность сенсорных нейронов, внутриклеточные пути, опосредующие комплексную реакцию личинки, основные активные группы сигнальной молекулы.

Показано, что регуляция темпов развития личинок химическим веществом, выделяемым голодными взрослыми особями, встречается у всех исследованных групп животных: моллюсков, полихет и морских ежей. Регуляция темпов развития происходит в зависимости от стадии личинки: развитие замедляется на претаморфных стадиях и ускоряется во время метаморфоза; локомоторные программы всегда активируются. Апикальные сенсорные нейроны, синтезирующие серотонин или дофамин, являются связующим звеном между внешним фактором и реакцией личинки. Динамика экспрессии трех типов рецепторов серотонина и связанных с ними G-белков меняется в зависимости от стадии развития и определяет направленность ответа на внешний химический сигнал на пре- и метаморфных стадиях. Синтезируемое взрослыми животными химическое вещество не является строго конспецифичным. Соединение имеет в составе ароматический цикл (возможно гетероцикл), длинный алифатический участок с минимум одной двойной связью и атом азота, входящий в гетероцикл и/или включенный в алифатическую цепочку.

Работа выполнена в рамках темы государственной программы фундаментальных научных исследований ИБР РАН № 0108-2016-0003, при поддержке грантов РФФИ № 15-29-02650 и № 15-04-07573.

1. Hadfield M. G. and Paul V. J. // Marine Chemical Ecology. Chapter 13. 2001. P. 431-461.
2. Thomas, J. H. // Chemosensory regulation of development in *C. elegans*. Bioessays 1993. V. 15. P. 791-797.
3. Voronezhskaya, E. E., Khabarova M. Yu., Nezlin L. P. // Development. 2004. V. 131. P. 3671-3680.
4. Voronezhskaya E.E., Khabarova M.Y., Chaban A.K., Nezlin L.P. // Rus. J Dev. Biol. 2007. V. 38. P. 94-104.

Анаэробный метаболизм многоклеточных животных

А.Л. Дроздов

Национальный научный центр морской биологии ДВО РАН, Владивосток

Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

Электронная почта: anatoliyld@mail.ru

В процессе анаэробного метаболизма, или гликолиза, АТФ синтезируется только из углеводов. Побочным продуктом такого метаболизма является молочная кислота. В отсутствие кислорода АТФ может синтезироваться только при превращении пирувата в молочную кислоту. В ходе анаэробного метаболизма при окислении каждой молекулы глюкозы образуются две молекулы АТФ (в отличие от 38 молекул АТФ при аэробном распаде).

Появление аэробного метаболизма ускорило эволюцию земной биоты, создав предпосылки для эволюции высших форм жизни. К кислородному фотосинтезу, способны цианобактерии и хлоропласты фотосинтезирующих эукариот. Современная атмосфера Земли содержит около 21% кислорода, в больших городах – до 20,3 %. Еще 150 лет тому назад его было около 26%, а в карбоне доля кислорода в атмосфере достигала 35%.

Аэробный метаболизм у эукариот происходит в митохондриях. Аэробные эукариоты составляют абсолютное большинство современной биоты. Некоторые из них способны переходить к жизни в анаэробной среде. При этом они утрачивают митохондрии. В основном это характерно для одноклеточных (археонад и некоторых инфузорий). Недавно была обнаружена уникальная группа облигатно анаэробных многоклеточных животных. Это лорициферы (*Loricifera*), живущие в глубоководных желобах Средиземного моря в галофильных условиях [1]. Несколько видов этого типа постоянно живет в среде, где нет кислорода. Всего лорицифер описано около 25 видов. Они распространены по всему Мировому океану. Это типичные обитатели интерстициали, то есть пространств между песчинками в донном грунте. У анаэробных лорицифер митохондрии не обнаружены.

Некоторые морские многоклеточные животные (морские ежи, двустворчатые моллюски) способны незначительное время переживать анаэробные условия. При этом у них происходит переключение аэробного метаболизма на анаэробный, что сопровождается лактатацидозом, который резко ограничивает активность ферментов.

Показано [2], что у млекопитающих способность раковых клеток к метастазированию тесно связана с их способностью к гликолизу. Утрата ими гликолитической активности приводит к потере способности перевиваться. Метаболизм трансформированных клеток представляет собой сочетание окислительного и гликолитического метаболизма (дыхание/аэробный гликолиз). Доброкачественные опухоли по этому соотношению занимают промежуточное положение.

У морских факультативно анаэробных животных опухоли встречаются сравнительно редко. Некоторые морские беспозвоночные являются экстремальными долгожителями: например, морские ежи *Mesocentrotus franciscanus* живут до 220 лет, двустворчатые моллюски *Crenomytilus grayanus* – до 150 лет, *Panopea abrupta* – более 150 лет, *Arctica islandica* – более 500 лет), *Tridacna gigas* – более 200 лет.

Из многих причин малигнизации клеток, приводящих к неконтролируемому размножению отдельных стволовых клеток, выходящих из-под тканевого контроля, общим является нарушение тканевого гомеостаза, обусловленного метаболизмом клеточного ансамбля. Исследование особенностей метаболизма морских животных-долгожителей, общим свойством которых является способность регулировать соотношение аэробного и анаэробного метаболизма, может приблизить к решению проблемы опухолеобразования трансформированных клеток.

1. Danovaro R., Company J.B., Corinaldesi C., D'Onghia G. et al. // PLoS ONE, 2010. V. 5. P.e11832.
2. Warburg O. Über den Stoffwechsel der Tumoren. – Berlin: Verlag von J. Springer, 1926. P. 263.

Экспериментальные подходы в белковой интерактоме

А.С. Иванов

*НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича*Электронная почта: alexei.ivanov@ibmc.msk.ru

Исследования белок-белковых взаимодействий (ББВ) обусловлены тем фактом, что большинство белков в живых системах работают в составе стабильных или динамических белковых комплексов. В первой части представляемой лекции дается краткое описание и сравнительная оценка наиболее часто используемых экспериментальных методов в белковой интерактоме. Во второй части лекции представлено описание собственных оригинальных подходов и результатов интерактомных исследований.

Ранее нами был разработан метод прямого молекулярного фишинга потенциальных партнеров ББВ, основанный на совмещении технологий поверхностного плазмонного резонанса (SPR), хроматографии и масс-спектрометрии белков (LC-MS/MS). Его применимость была проверена экспериментально с оценкой эффективности и специфичности фишинга белка-партнера на целевой белок-наживку [1-3], а также в исследованиях белков, кодируемых генами 18-й хромосомы человека [4-6].

Для повышения эффективности метода мы перешли от фишинга из общего тканевого лизата к фишингу из его отдельных фракций, полученных индивидуально для каждого белка-наживки с помощью комбинации гель-хроматографии и SPR анализа фракций на присутствие потенциальных белков-добычи [7]. В результате были идентифицированы возможные белки-партнеры 7 белков человека, кодируемых генами 18-й хромосомы.

Однако, данный метод охватывает лишь локальные участки интерактома и не обеспечивает его системный (омикс) анализ. В рамках проекта РФФИ 16-04-00057, мы разработали подход, основанный на хроматографическом профилировании нативных белковых комплексов. Согласно нашей гипотезе, при гель-хроматографическом разделении тканевого лизата в его фракциях должны присутствовать белки, молекулярная масса которых не соответствует калибровке колонки, оказавшиеся в более тяжелых фракциях в составе молекулярных комплексов. Реализуемость подхода была подтверждена в пилотном эксперименте, который показал возможность получения информации о размерах стабильных белковых комплексов и об участии (или неучастии) индивидуальных белков в формировании простых димерных или более сложных комплексов с числом субъединиц 3 и более.

В лекции представлены результаты работ, выполненных в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 годы и гранта РФФИ 16-04-00057.

1. Ershov P. et al. // Proteomics. 2012. V.12, P. 3295–3298.
2. Иванов А.С. и др. // Биомедицинская химия. 2013. Т. 59(2). С. 171-182.
3. Иванов А.С., Медведев А.Е. // Биомедицинская химия. 2015. Т. 61(2). С. 231-238.
4. Victor G. Zgoda et al. // J. Proteome Res. 2013. V. 12. P. 123-134.
5. Ivanov A.S et al. // FEBS Journal. 2013. V. 280 (Suppl. 1). P. 633, SE02-14.
6. Ivanov A.S. et al. // Proteomics. 2014. V. 14. P. 2261–2274.
7. Иванов А.С. и др. // Биоорганическая химия. 2016. Т. 42(1). С. 18-27.

Уникальные углевод-связывающие белки пропеллерного типа

П.А. Лукьянов^{1,2}, В. Ли³, С. У⁴

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток

²Хейлудзянский университет, Харбин, КНР

³Даляньский океанологический университет, Далянь, КНР

⁴Институт биохимии, Тайпэй, Тайвань

Электронная почта: paluk@mail.ru

Лектины – углевод-связывающие белки, активно участвуют в передаче сигнала в клетке. Для проявления своей функциональности им требуется мультивалентное взаимодействие с природными гликанами на клеточной поверхности. Во многих случаях это достигается за счет олигомеризации моновалентных субъединиц, то есть полипептидов, содержащих только один углевод-распознающий домен (СРД). Недавно был описан новый тип лектинов пропеллерного типа, в которых на одной полипептидной цепи организованы три и более СРД, пространственная организация которых выглядит как пропеллер. Такие лектины описаны для рыб, для токсического лектина морских ежей и для двустворчатых моллюсков семейства Mytilidae. Эти лектины могут избирательно взаимодействовать с гликанами онкотрансформированных клеток, блокируя их деление. С точки зрения биотехнологии, это семейство лектинов выгодно отличается от других одной полипептидной цепью, которую легко можно синтезировать методами биотехнологии и клеточной биологии.

Прямая и обратная генетика и функции цитокинов

С.А. Недоспасов

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

Электронная почта: sergei.nedospasov@gmail.com

Объектами наших исследований в течение многих лет являются физиологические функции провоспалительных цитокинов, таких TNF и IL-6. И TNF, и IL-6 имеют множественные функции в иммунной системе и продуцируются многими клетками, в том числе неиммунными. Они передают свои сигналы через высокоаффинные рецепторы, которые используют RIP-TRAF-IKK-NF κ B или JAK-STAT сигнальные каскады. Но такие сигнальные каскады не являются уникальными для этих цитокинов, каждый из которых входит в целое семейство молекул со сходными механизмами передачи сигнала. Что будет если из такой сложной системы, как живой организм, убрать один-единственный цитокин? Технологии обратной генетики позволили выявить *невырожденные* функции каждого цитокина в контексте целого организма – как в нормальном физиологическом состоянии, так и при различных патологиях. С точки зрения фундаментальной науки эти результаты стали обоснованием терапевтической блокировки одного-единственного цитокина при некоторых аутоиммунных болезнях. Не удивительно, что и TNF, и IL-6 стали удачными мишенями для терапевтических антител, и это произвело настоящую революции в некоторых областях практической медицины. Дополнительно, наши исследования показали, что патогенные свойства данного цитокина могут быть связаны с ограниченным числом (или даже одного типа) клеток-продуцентов. Учитывая, что все клетки-продуценты экспрессируют продукт одного и того же гена, и в литературе нет указаний на возможность различных пост-синтетических модификаций этих цитокинов, этот результат является нетривиальным и требует механистических объяснений. Тем не менее, уже на этой стадии наши результаты обосновывают новую модальность анти-цитокиновой терапии, при которой с помощью биспецифических антител можно блокировать цитокин из одного клеточного источника. Наконец, недавно к этому же кругу проблем нами применены методы прямой генетики – поиск мутаций в одной из молекул сигнальных каскадов, которые могут привести к блокировке активации цитокинов или их патогенных функций.

Все эти идеи и экспериментальные результаты и будут предметом моей лекции.

Работа поддержана грантом Российского Научного Фонда 14-25-00160 и грантом Министерства Образования и Науки 14.Z50.31.0008.

Гликолипиды растений: структура, анализ, функции и практическое использование

Э.В. Некрасов

*Амурский филиал Ботанического сада-института ДВО РАН, Благовещенск*Электронная почта: ed_nekrasov@mail.ru

Гликолипиды имеют гидрофильную углеводную и гидрофобную липидную части. По строению липидной части гликолипиды подразделяются на глицерогликолипиды, содержащие остаток глицерина, две гидроксильные группы которого образуют сложноэфирные связи с жирными кислотами, и сфингогликолипиды, имеющие в основе длинноцепочечное основание (сфингозин или его производные), связанное с жирной кислотой амидной связью. Глицерогликолипиды (ГГЛ) являются доминирующими полярными липидами у растений, именно им будет посвящена основная часть доклада.

ГГЛ включают нейтральные галактозилацилглицерины и отрицательно заряженные сульфохиновозилацилглицерины. Наиболее обычными и преобладающими галактозилацилглицеринами являются моногалактозилдиацилглицерин (МГДГ) и дигалактозилдиацилглицерин (ДГДГ). Структурное разнообразие галактозилацилглицеринов обеспечивается за счет образования высших гомологов (три- и тетрагалактозилацилглицеринов), различных конфигураций аномерных атомов остатков галактозы в ДГДГ и высших гомологах, замены остатков галактозы на остатки глюкозы, различных модификаций углеводной части и разнообразия состава жирных кислот. Сульфохиновозилдиацилглицерин (СФДГ) также является обычным гликолипидом фотосинтезирующих организмов и характеризуется более насыщенными жирными кислотами.

Для анализа ГГЛ применимы все методы анализа, используемые для анализа липидов: тонкослойная хроматография, газо-жидкостная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрия.

МГДГ, ДГДГ и СФДГ входят в состав хлоропластов растений и мембран цианобактерий в качестве составных компонентов пигмент-белковых комплексов и участвуют в процессе фотосинтеза. При недостатке фосфата ДГДГ и СФДГ способны замещать фосфолипиды в мембранах, высвобождая фосфат для других жизненно важных процессов. Полиненасыщенные жирные кислоты в составе МГДГ могут быть субстратом для липоксигеназ, которые способны образовывать окисленные производные жирных кислот, включая жасмоновую кислоту, участвующих в защитных реакциях растений. Образование олигогалактолипидов активируется при стрессовых ситуациях (замораживание, высушивание, гиперосмотический стресс), что предполагает их участие в адаптации к стрессовым воздействиям.

Несмотря на то, что ГГЛ являются главными липидами зеленых тканей растений, а значит и наиболее массовыми липидами на планете, и благодаря своему строению обладают свойствами природных сурфактантов, они не нашли широкого практического применения. Показано, что гликолипиды существенно улучшают качество хлебобулочных изделий. В отличие от гликолипидов бактериального происхождения, растительные гликолипиды в меньшей степени используются в косметической промышленности. Тем не менее, растет число публикаций о потенциальной биологической активности растительных гликолипидов. МГДГ и его деацилированный аналог проявляли противораковую активность. Обнаружено, что ДГДГ имеет противовоспалительную активность. Галактозилацилглицерины, поступающие с пищей, оказывают положительный эффект на пищеварительную систему. СФДГ и его деацилированный аналог являются перспективными противораковыми, иммуносупрессивными и противовирусными агентами, воздействуя на различные белки, участвующие в репликации ДНК и процессах транскрипции. Возможно, новые методы экономически эффективного выделения ГГЛ с сохранением их природной структуры будут способствовать более широкому их практическому применению.

Культуры клеток морских гидробионтов

Н.А. Одинцова

Национальный научный центр морской биологии ДВО РАН, Владивосток

Электронная почта: nelodin@mail.ru

Цель работы – анализ факторов, вовлеченных в детерминацию и поддержание плюрипотентности стволовых клеток (СК) различных типов морских гидробионтов в культуре, а также разработка условия культивирования, приводящих к направленной дифференцировке определенных типов клеток морских гидробионтов. Для большинства организмов СК взрослых особей редки и трудны для изучения. У некоторых морских беспозвоночных, в связи с повышенной их способностью к регенерации и наличием у них бесполого размножения, существует постоянный высокий пул СК, обладающих потенциалом, сопоставимым с таковым яйцеклетки. Кроме того, СК морских организмов обладают рядом уникальных свойств, связанных с клеточным паразитизмом соматических и половых клеток, с регенерацией целых органов и тела, с эффективной подвижностью клеток внутри организма, так как определенной ниши распределения их в организме нет. Широкий спектр биологически активных веществ (БАВ) делает морских беспозвоночных привлекательным объектом для биотехнологических разработок. Продукция БАВ *in vitro* может стать альтернативой химическому синтезу или аквакультуре. Однако при культивировании клеток морских гидробионтов исследователи сталкиваются с рядом проблем, важнейшие из которых – контаминация и низкая пролиферативная активность клеток в культурах. Важным направлением исследований является поиск условий, при которых эти клетки могли бы активно делиться. Как показывают наши и литературные данные, введение онкогенов в клетки морских беспозвоночных (ежей, устриц, крабов и креветок), не увеличивает скорость роста клеток. Только встраивание чужеродного гена, кодирующего один из факторов транскрипции, в область генов факторов роста дало эффект – получены быстро делящиеся клетки морского ежа. Сейчас нами разработаны технологии, которые позволяют «включить» программы специализации и контролировать дифференцировку клеток этих животных *in vitro*, получая нужные экспериментатору клетки (например, пигментные клетки плоских морских ежей, продуцирующие эхинохром) без использования трансгенов. Кроме того, мы разработали эффективные способы идентификации вирусных патогенов в культурах клеток крабов и исследовали взаимодействие вируса с клетками хозяина. Начаты эксперименты по ре-программированию генома соматических клеток (фибробластов кожи) морских млекопитающих в индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК). Продукты генов, используемые для ре-программирования соматических клеток в ИПСК, являются факторами транскрипции и белками, регулирующими различные функции эмбриональных СК. Отдельным блоком стоят исследования, связанные с поиском новых криопротекторов и направленные на создание специализированных криобанков для сохранения клеток морских гидробионтов, в том числе и клеток морских млекопитающих. Впервые установлено, что комбинация мембранных стабилизаторов, эмульсии липидных экстрактов морских гидробионтов и специфичного набора антиоксидантов обладает синергизмом действия, способствуя реконструкции поврежденных клеточных мембран клеток морских гидробионтов и восстановлению физиологической активности их клеток после холодового шока. Антиоксиданты, как отдельные компоненты криопротекторной смеси, не обладают криопротекторными свойствами. Таким образом, для различных видов морских гидробионтов разработаны условия культивирования, приводящие к направленной дифференцировке определенных типов клеток. Кроме того, для нужд биотехнологии и сохранения генетических ресурсов создан единый Криобанк.

Биохимия липидов морских организмов: методические подходы и результаты

В.И. Светашев

Национальный научный центр морской биологии ДВО РАН, Владивосток

Электронная почта: ysvetashev@mail.ru

Метод важнее открытия.

Л.Д. Ландау

Исследование липидов морских организмов можно условно разделить на ряд этапов. Начало положило быстрое развитие тонкослойной хроматографии. Метод дал возможность быстрого качественного и количественного анализа сложных смесей липидов. Это позволило определить строение и распределение множества компонентов общих липидов, в первую очередь фосфолипидов и гликолипидов в бактериях, растениях, беспозвоночных и позвоночных организмах.

С развитием газовой хроматографии и особенно капиллярной ГХ, началось детальное изучение распределения жирных кислот (ЖК) как в различных организмах, так и по отдельным классам липидов. Это привело к пониманию роли отдельных ЖК, путей их превращения. В экспериментальных и морских экосистемах с помощью маркерных кислот исследовались пищевые цепи. Также изучались роль липидов и ЖК в процессах адаптации к изменению температуры, солености и освещения. Следующий шаг был сделан с использованием ГЖ-МС. Этот подход позволил практически абсолютно точно идентифицировать все ЖК и продукты их превращений.

Очевидно, что следующий уровень исследований – липидомика, что означает полный профиль липидов в клетке, ткани или организме и взаимодействие с другими липидами белками и метаболитами.

Морские растения морей Азиатско-Тихоокеанского региона в традиционной и современной медицине

Э.А. Титлянов¹, Т.В. Титлянова¹, О.С. Белоус²

¹Национальный научный центр морской биологии ДВО РАН, Владивосток

²Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток

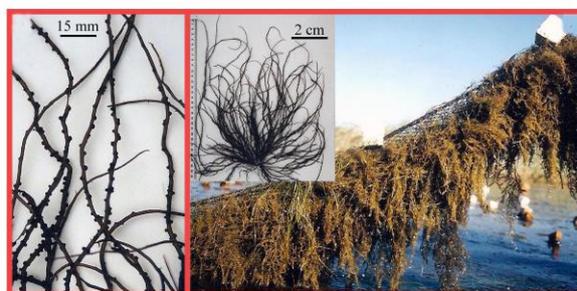
Электронная почта: etitlyanov@mail.ru

Морские растения (водоросли и травы) широко используются в народной медицине стран Азиатско-Тихоокеанского региона. Наиболее распространенным применением водорослей является борьба с паразитами. Наиболее эффективной водорослью, обладающей антигельминтными свойствами, является красная водоросль *Digenea simplex* (Рис.), ее используют в борьбе с трематодами, цестодами и нематодами. В борьбе с внутрикишечными паразитами применяют также бурые водоросли из рода *Sargassum* (Рис.) и зелёные из рода *Codium* (Рис.). Кожные заболевания лечат отварами *Hydropuntia* и *Gracilaria* (Рис.) Красные водоросли из родов *Porphyra*, *Caloglossa*, *Gracilaria*, *Euclidean*, бурые саргассовые и зелёные ульвовые водоросли используют для лечения болезней ЖКТ. При сердечнососудистых заболеваниях хорошо помогают зеленые водоросли *Caulerpa* и *Ulva*. Водорослями лечат такие болезни нервной системы как гиперактивность, депрессия, бессонница, агрессия, шизофрения.

Экстракты и препараты из водорослей проявляют антивирусную, антимикробную, антигрибковую и антигельминтную активности, они также обладают антиоксидантными, антиопухолевыми, антидиабетическими и антиаллергическими свойствами, способствуют повышению иммунитета и снижению негативного воздействия стресса. В народной и современной официальной медицине стран АТР используют морские растения одних и тех же родов: *Acetabularia*, *Avrainvillea*, *Caulerpa*, *Cladophora*, *Codium* (Рис.), *Dictyosphaeria*, *Halimeda*, *Monostroma*, *Ulva*, *Valonia* (Chlorophyta); *Colpomenia*, *Cystoseira*, *Dictyota*, *Dictyopteris*, *Ecklonia*, *Hydroclathrus*, *Kjellmaniella*, *Lobophora*, *Padina*, *Sargassum* (Рис.), *Scytosiphon*, *Spathoglossum*, *Turbinaria*, *Undaria*, *Zonaria* (Heterokontophyta); *Amphiroa*, *Asparagopsis*, *Bostrychia*, *Caloglossa*, *Centroceras*, *Ceramium*, *Champia*, *Chondria*, *Chondrophycus*, *Chondrus*, *Corallina*, *Digenea* (Рис.), *Dumontia*, *Euclidean*, *Galaxaura*, *Gelidiella*, *Gelidium*, *Gloiopeltis*, *Gracilaria* (Рис.), *Grateloupia*, *Griffithsia*, *Halymenia*, *Heterosiphonia*, *Hydropuntia*, *Hypnea*, *Jania*, *Laurencia*, *Meristotheca*, *Neorhodomela*, *Polysiphonia*, *Porphyra*, *Prionitis*, *Pterocladia*, *Pterocладиella*, *Rhodymenia*, *Solieria*, *Tricleocarpa*, *Wrangelia* (Rhodophyta).



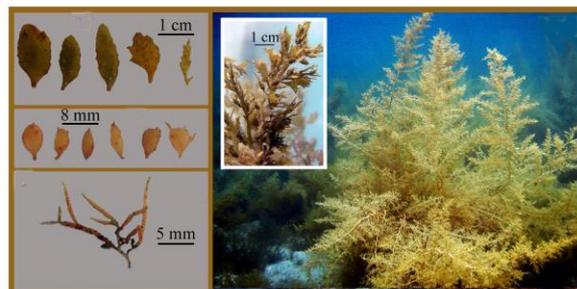
Digenea simplex (Wulfen) C. Agardh



Gracilaria vermiculophylla (Ohmi) Papenfuss



Codium intricatum Okamura



Sargassum miyabei Yendo

Проблемы и достижения в структурном анализе сульфатированных полисахаридов

А.И. Усов

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН, Москва

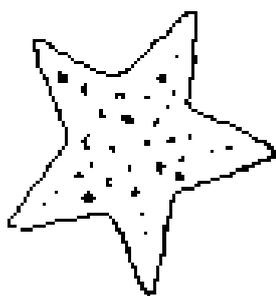
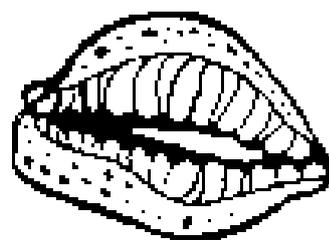
Электронная почта: usov@mail.ru

Сульфатированные биогликоны (СБГ) широко распространены в природе. Примерами могут служить гликозаминогликоны животных и разнообразные полисахариды морских водорослей. В структурном анализе СБГ к обычным проблемам, связанным с исследованием углеводсодержащих биополимеров, прибавляется необходимость обнаружения, количественного определения и установления положения сульфатных групп. Эти задачи решаются по-разному для разных классов СБГ.

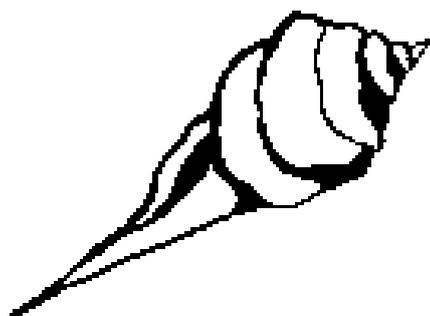
Поскольку влияние сульфатирования на положение сигналов ближайших протонов и атомов углерода в спектрах ЯМР хорошо известно, для регулярных полисахаридных структур, имеющих хорошо разрешенные спектры ЯМР, положение сульфатных групп следует непосредственно из спектральных данных. Примерами служат каррагинаны красных водорослей или хондроитинсульфаты животных. Однако увеличение степени сульфатирования в регулярных углеводных цепях вызывает трудно предсказуемые изменения в спектрах ЯМР. Еще более трудной задачей является спектральный анализ нерегулярных СГ, таких как фукоиданы бурых водорослей. В этих случаях необходимо получение десульфатированных производных и сравнение их с нативными СБГ.

Сульфатные группы устойчивы к щелочному гидролизу (хотя могут отщепляться в результате внутримолекулярного элиминирования), а в кислых условиях их устойчивость сравнима с устойчивостью гликозидных связей обычных моносахаридов. Для химического десульфатирования используются либо сольволиз в смесях ДМСО-МеОН, либо действие силилирующих реагентов, хотя особенности обеих реакций изучены недостаточно. Чрезвычайно заманчивое применение сульфатаз сдерживается крайне малой доступностью ферментов, способных удалять сульфатные группы из полимерных субстратов.

Частичное химическое или ферментативное расщепление СБГ может приводить к получению сульфатированных олигосахаридных фрагментов, идентифицируемых с помощью масс-спектрометрии. Преимуществом такого подхода служит возможность работы с микроколичествами веществ, а недостатком – трудность количественной интерпретации масс-спектрометрических данных.



Устные доклады



Анализ гидролитических и трансгликозилирующих свойств рекомбинантной эндо-1,3-β-D-глюканазы из морской бактерии *Formosa algae* КММ 3553: субстратная специфичность и условия реакции

А.А. Белик, Т.Н. Звягинцева

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
Электронная почта: belik_a_a@mail.ru

Морская грамотрицательная палочковидная хемоорганотрофная щелочеустойчивая мезофильная бактерия *Formosa algae* КММ 3553 обитает на талломах бурой водоросли *Fucus evanescens* в холодных водах Охотского моря в районе Курильских островов. Она является богатым источником полисахарид-деградирующих ферментов. Субстрат-специфичная эндо-1,3-β-D-глюканаза (GFA) ранее была обнаружена в геноме бактерии, экспрессирована в *E. coli* и выделена в гомогенном состоянии. На сегодняшний день это единственная эндо-1,3-β-D-глюканаза (ЕС 3.2.1.39), охарактеризованная для представителей рода *Formosa* и единственная бактериальная эндо-1,3-β-D-глюканаза структурного семейства GH16 с показанной трансгликозилирующей активностью. Анализ продуктов действия данной глюканазы на полисахариды позволил классифицировать её как фермент эндо- типа. Реакция трансгликозилирования была исследована с помощью MALDI-TOF с использованием метил-β-D-ксилопиранозида, метил-β-D-глюкопиранозида и глицерина в качестве акцепторов, а также с помощью 4-метилумбеллиферил-β-D-глюкозида методом ТСХ. По результатам сравнения интенсивности сигналов продуктов гидролиза и трансгликозилирования, глицерин был признан наиболее эффективным акцептором (поскольку в данном случае продукты трансгликозилирования преобладали). Было зафиксировано образование продуктов со степенью полимеризации от 2 до 12. Метод ТСХ был использован для анализа кинетики трансгликозилирующей реакции и влияния pH на неё. Наибольшее количество продуктов трансгликозилирования образовывалось при pH 7,0; тогда как продукты гидролиза преобладали при pH 6,0. Изучение кинетики трансгликозилирования с помощью 4-метилумбеллиферил-β-D-глюкозида показало, что максимальное количество продуктов трансгликозилирования накапливается через 5 часов после начала реакции, затем же они постепенно подвергаются гидролизу с образованием UmbGlc и Umb-L2 в качестве конечных продуктов. Полученные данные означают, что в ходе реакции трансгликозилирования образуются только 1,3- связи. Рекомбинантная GFA может быть использована в лабораторной практике как удобный инструмент для обнаружения ламинарана в образцах полисахаридов и скрининга потенциальных ингибиторов эндо-1,3-β-D-глюканаз.

Работа поддержана грантом РФФИ №16-54-540004 Вьет_а.

Масс-спектрометрия фрагментов фукоиданов из бурых водорослей *Sargassum duplicatum* и *Padina boryana*

К.В. Белокозова, Р.В. Усольцева, С.Д. Анастюк

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
Электронная почта: kristina_ars@mail.ru

Использование природных соединений в качестве лекарственных средств остается приоритетом многих групп исследователей по всему миру. Хотя сульфатированные полисахариды из бурых водорослей известны уже более ста лет как фукоиданы, интерес к ним постоянно растет, поскольку бурые водоросли являются богатым, возобновляемым, доступным для искусственного выращивания источником.

Фукоиданы – нетоксичные соединения, обладающие антикоагулянтной, антивирусной, иммуномодулирующей и противоопухолевой активностью, которая может зависеть от ряда структурных характеристик. Хотя количество публикаций о биологической активности этих полисахаридов постоянно растет, количество работ по установлению структуры этих полисахаридов заметно меньше. Построены фукоиданы из последовательно связанных остатков α -L-фукопиранозы, которые могут быть замещены остатками других сахаров, например, галактозой, маннозой, остатками уроновой кислоты. Разнообразие заместителей может формировать сложную разветвленную структуру, установление которой требует комплексного подхода с использованием современных физико-химических и инструментальных методов анализа.

Нами был разработан метод автогидролиза (автокатализ гидролиза с использованием собственных сульфатных групп в качестве источника протонов) для получения низкомолекулярных производных фуканов и галактофуканов. Метод позволяет уменьшить молекулярную массу исходного полисахарида и избирательно удалить сульфатных групп из позиции С-2 для 3-связанных фуканов. Производные показывают сходную, а иногда и более высокую антиопухолевую активность *in vitro* в сравнении с исходным полимером [1-3].

Поскольку низкомолекулярные фракции гидролизатов анализируются нами в основном современными методами масс-спектрометрии (МС), метод важно развивать. Именно использование МС позволило впервые определить структурные особенности фукоолигосахаридов, в которые входили остатки минорных сахаров в ряде последних работ группы.

В данной работе мы использовали автогидролиз в тяжелой по кислороду [4] (^{18}O) воде для получения меченных по восстанавливающему концу олигосахаридов. Использование метки позволило внести асимметрию в молекулярные массы фрагментных ионов, что позволило точнее интерпретировать тандемные масс-спектры.

Быстрый МС-анализ фрагментов нового галактофукана из бурой водоросли *S. duplicatum*, полученных автогидролизом в H_2^{18}O , а также дополнительного гидролиза с помощью ТФУ показал, что основная цепь полисахарида, наиболее устойчивая к кислотному гидролизу, состояла, вероятно, из повторяющихся дисахаридных звеньев -Fuc-(1,4)-Gal-, -Gal-(1,4/1,6)-Gal-. Боковые цепи, предположительно, представляли собой протяженные фрагменты из (1,3)-связанных остатков фукозы с разветвлениями при С-2. Сульфатные группы были обнаружены при С-2, С-4 и С-3 в остатках фукозы и при С-2, С-4, С-6 в остатках галактозы.

Предварительное масс-спектрометрическое исследование нового галактофукана из *P. boryana* показало, что этот слабосульфатированный полисахарид имеет цепи, вероятно, построенные из (1,3)-/(1,4)-связанных остатков фукозы и галактозы, поскольку в гидролизатах были найдены соответствующие дисахариды. Внесение метки ^{18}O позволило установить сульфатирование при С-3 остатков фукозы и галактозы.

Работа по исследованию бурой водоросли *Padina boryana* поддержана грантом РНФ № 16-13-10185. Работа по исследованию бурой водоросли *Sargassum duplicatum* поддержана грантом РФФИ 16-54-540004.

Полиэлектролитные комплексы хитозан-каррагинан как носители лекарственных средств

А.В. Володько, Н.П. Мищенко, И.М. Ермак

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
Электронная почта: morskaia@list.ru

В настоящее время продолжается поиск новых композитных материалов для биомедицины с минимальными побочными эффектами и широким спектром биологической активности. В качестве основы таких фармацевтических средств можно рассматривать полисахариды природного происхождения благодаря их биоразлагаемости, биосовместимости, доступности и разнообразной физиологической активности.

Полисахариды полиионной природы интересны тем, что могут быть использованы для получения разнообразных полиэлектролитных комплексов (ПЭК), что открывает перед нами возможность создания препаратов с заданными свойствами, тем самым расширяя спектр их активности.

Среди полианионных полисахаридов важное место занимают каррагинаны – линейные сульфатированные полисахариды красных водорослей, построенные из остатков D-галактозы и ее производных, соединенных β -(1→4) и α -(1→3) гликозидными связями.

Хитозан – природный поликатионный линейный полисахарид, полимерная цепь которого состоит из β -(1→4)-связанных остатков D-глюкозамина и N-ацетил-D-глюкозамина.

Обладая уникальными физико-химическими свойствами и разносторонней биологической активностью, в частности иммуномодулирующей, противовирусной, антибактериальной, антикоагулирующей и антиоксидантной, оба полисахарида имеют широкий спектр применения.

Цель данной работы: рассмотреть ПЭК хитозан-каррагинан в качестве систем носителя для адресной доставки и пролонгированного действия природного полигидроксиафтохинона эхинохрома (зарегистрированного в РФ в качестве лекарственного препарата «Гистохром»), обладающего широким спектром фармакологического действия.

Используя метод динамического рассеяния света были подобраны соотношения и концентрации исходных полисахаридов и эхинохрома для получения ПЭК хитозан-каррагинан с включенным эхинохромом, при которых смесь представляет собой однородные по заряду частицы двух популяций по размеру: 128-150 нм – 95%, 3000 нм – 5%, для смесей с избытком хитозана, 200 нм – 92%, 4000 нм – 8%, для смесей с избытком каррагинана. Полученные смеси ПЭК + эхинохром были лиофильно высушены, а после растворены в воде. После сушки в УФ-спектре смеси присутствует полоса поглощения при 470 нм, характерная для не окисленной формы эхинохрома. Таким образом, можно рассматривать лиофилизацию, как вариант хранения ПЭК хитозан-каррагинан с включенным эхинохромом.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-14-00051.

Анализ транскриптов и экспрессии генов *vasa* и *runt* при регенерации у голотурии *Eupentacta fraudatrix*В.А. Гарипова¹, А.С. Гирич², И.Ю. Долматов²¹Дальневосточный федеральный университет, Владивосток²Национальный научный центр морской биологии ДВО РАН, ВладивостокЭлектронная почта: garipulia@mail.ru

Регенерация – морфологический процесс замены различных структур (от частей клеток до крупных частей тела) после естественного изнашивания или случайной утраты, результатом которого является сохранение целостности организма и восстановление утраченной функции [1]. Представители типа Echinodermata выделяются ярко выраженными восстановительными способностями [2]. В качестве модельного объекта для исследования механизмов регенерации была выбрана голотурия *Eupentacta fraudatrix*. Ранее при анализе регенерирующих зачатков *E. fraudatrix* были обнаружены транскрипты генов *vasa* и *runt* [2]. В настоящее время морфология и клеточные механизмы в процессе регенерации у *E. fraudatrix* подробно описаны [1], однако молекулярные механизмы, лежащие в основе восстановительных морфогенезов неизвестны. Белки Runt относятся к семейству транскрипционных факторов, которые играют важную роль в управлении пролиферацией и дифференцировкой клеток в морфогенетических процессах [3]. Ген *vasa* известен как маркер стволовой линии и необходим для развития и дифференцировки стволовых клеток [4]. Несмотря на большое внимание к механизмам трансформации клеток, таковых исследований на иглокожих ранее не проводилось. На сегодняшний день гены *vasa* и *runt* у голотурий остаются малоизученными.

В связи с этим целью данной работы было изучение экспрессии генов *vasa* и *runt* в процессе регенерации аквафарингеального комплекса (АК) голотурии *Eupentacta fraudatrix*.

В качестве объекта исследования были использованы взрослые особи голотурии *E. fraudatrix* в норме и на разных сроках регенерации. Была выделена тотальная РНК регенерирующих и интактных АК. Для установления полной последовательности транскриптов исследуемых генов был использован метод 5'- и 3'- Step-Out RACE. Нами было получено несколько продуктов реакции, которые далее были использованы для трансформации и секвенирования. По итогам секвенирования были получены полные последовательности кодирующих участков транскриптов. В результате проведенных исследований было показано, что у голотурии *E. fraudatrix* при регенерации и в норме происходит экспрессия генов *vasa* и *runt*. Анализ динамики активности генов проводилось с помощью qPCR, в качестве референсных генов были использованы *ef1a* и *tubulin*. Также было проведено выравнивание последовательностей найденных генов и их гомологов у других животных для построения филогенетических деревьев. Выявлено, что аминокислотная последовательность генов *vasa* и *runt* *E. fraudatrix* имеют наибольшую гомологию с *vasa* и *runt* иглокожих, а также с *vasa* и *runt* кишечнополостных и млекопитающих. При этом дерево сходства показывает правильные группы гомологичных генов различных животных. По-видимому, гены *vasa* и *runt* активно участвуют в процессах роста и дифференцировки голотурии *E. fraudatrix*.

1. Долматов И.Ю., Машанов В.С. // Владивосток: Дальнаука. 2007. С. 212.
2. Долматов И.Ю., Бобровская Н.В., Гирич А.С. // Вестник СПбГУ. 2014. С. 96-112.
3. Coffman, J. A. // Cell Biol. 2003. V. 27. P. 315-324.
4. Gustafson, E. A., Wessel G. M. // Bioessays. 2010. V 3. P. 626–637.

Пластичность глиальных клеток-предшественников в развитии зебрафиш *Danio rerio*

В.А. Дячук

*Национальный Научный Центр морской биологии ДВО РАН, Владивосток
Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург*
Электронная почта: slava.dyachuk@ki.se

Механизмы происхождения большого разнообразия клеточных типов в раннем развитии животных остаются до конца не понятными. Одним из источников большого числа дифференцированных клеток служит транзиторная структура, появившаяся уже у рыб – нервный гребень, клетки которого способны дифференцироваться в разные направления. Ранее нами было показано, что клетки нервного гребня не на прямую, а через глиальную стадию дифференцируются в пигментные клетки [1], парасимпатические нейроны [2], мезенхимальные стволовые клетки млекопитающих [3]. Реализуются ли подобные клеточные механизмы у рыб остается не изученным. Клетки нервного гребня у зебрафиш также как у млекопитающих мультипотентны и дифференцируются в хондроциты, остециты, нейроны, глию и другие типы [4-6]. Некоторые клетки нервного гребня дифференцируются на ранних стадиях в клетки-предшественники, которые сохраняются в полудифференцированном состоянии и позже участвуют в дифференциации клеток тканей взрослого животного [7]. Используя генетически-модифицированных *Cypr* рыб-данио, под промотором глиального транскрипционного фактора *Sox10* мы провели трейсинг клеток нервного гребня, глиальных клеток на разных стадиях развития. Мы доказали, что *Sox10YFP+* глиальные клетки-предшественники способны дифференцироваться в *TH+/HuC/D+* нейроны симпатических ганглиев, *TH+/HuC/D-* хромафинные клетки надпочечников, а также в *HuC/D+* нейроны краниальных ганглиев и нейроны энтерической нервной системы. Полученные данные вносят большой вклад в понимание механизмов происхождения и разнообразия терминально-дифференцированных клеток рыб.

Работа выполнена за счет средств гранта РФФИ № 16-04-01243 и гранта РНФ 17-19-01637 «Разработка диэлектрических и гибридных наноструктур как многофункциональных элементов биофотоники».

1. Adameyko I. et al. // Cell. 2009. V. 139. P. 366-379.
2. Dyachuk V. et al. // Science. 2014. V. 345. P. 82-87.
3. Kaukua N. et al. // Nature. 2014. V. 513. P. 551.
4. Baggiolini A. et al. // Cell Stem Cell. 2015. V. 16. P. 314-322.
5. Mongera A. et al. // Development. 2013. V. 140. P. 916-925.
6. Weston J. A., Thiery J. P. // Developmental biology. 2015. V. 401. P. 37-61.
7. Singh N., Mishra A., Jha B. // Gene. 2014. V. 547. P. 119-125.

Новые биологически активные метаболиты из факультативного морского гриба *Aspergillus candidus* KMM 4676

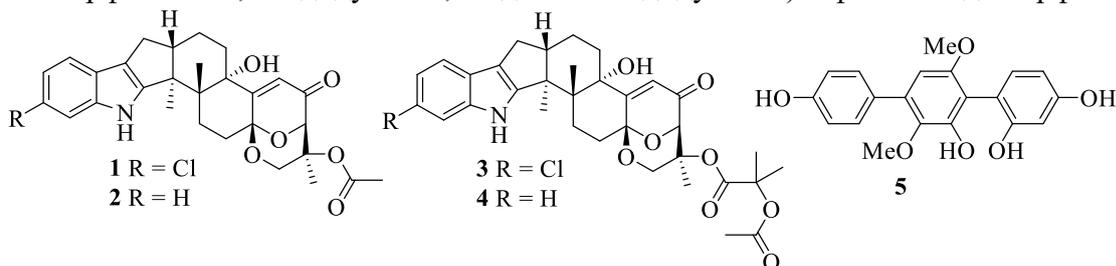
Е.В. Иванец¹, С.А. Дышловой^{1,2}, А.Н. Юрченко¹

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
²Department of Oncology, Hematology and Bone Marrow Transplantation with Section Pneumology, Hubertus Wald-Tumorzentrum, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany
 Электронная почта: ev.ivanets@yandex.ru

Микроскопические грибы на протяжении многих десятилетий служат для человечества источником разнообразных биологически активных соединений, применяемых в медицине и биотехнологии. Морские грибы способны продуцировать соединения, не имеющие аналогов среди метаболитов наземных экоформ, и обладающие широким спектром биологической активности. Грибы-ассоцианты оболочников мало изучены с химической точки зрения, поскольку представляют редкую экологическую группу грибов.

В результате поиска перспективных продуцентов биологически активных соединений среди грибов-микровицетов для дальнейшего изучения был выбран факультативный морской гриб *Aspergillus candidus*, ассоциированный с курильской колониальной асцидией (о. Шикотан, Тихий океан).

После трехнедельного культивирования на рисовой среде мицелий гриба дважды экстрагировали этилацетатом. Затем водно-спиртовой раствор (1:4) высушенного этилацетатного экстракта последовательно экстрагировали гексаном, этилацетатом и бутанолом. Этилацетатную часть разделяли на колонках с силикагелем и сефадексом LH-20, а также с помощью методов прямо- и обращенно-фазовой ВЭЖХ. В результате были выделены 11 индивидуальных соединений: новые индолдiterпеновые алкалоиды аспериндолы А-Д (1-4) и *n*-терфенильное производное терфениллин В (5), а также ряд известных грибных метаболитов терфенильной природы (терфениллин, 3-гидрокситерфениллин, 4"-деокси-3-гидрокситерфениллин, кандидузин А, 4"-деоксикандидузин А) и флавоноид хлорфлавоин.



Было исследовано влияние ряда выделенных соединений на жизнеспособность, прогрессию клеточного цикла и индукцию апоптоза терапевтически устойчивых клеток рака простаты (22Rv1, PC-3, LNCaP). В качестве контроля использовали препарат доцетаксел. В результате эксперимента были выявлены слабые и умеренные цитотоксические свойства *n*-терфенильных производных и хлорфлавоина. Аспериндол А (1) проявлял сильные цитотоксические свойства в отношении клеток линии 22Rv1, вызывал апоптоз этих клеток в наномолярных концентрациях и блокировал клеточный цикл на S- и G2/M-фазах. Аспериндол С (3) не был токсичен в отношении исследуемых линий раковых клеток.

Впервые была показана способность гриба *A. candidus* продуцировать индолдiterпеновые алкалоиды, содержащие в своей структуре атом галогена и уникальное для соединений подобного класса 1,3-диоксановое кольцо, а также редкий для природных соединений ацетилированный остаток 2-гидроксиизомаляновой кислоты. На основании литературных данных предложен возможный путь биогенеза аспериндолов А-Д (1-4).

Микробиологическая часть работы была поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант 15-29-02572-офи_м).

Иммунотропные эффекты каппа/бета-каррагинана

А.А. Калитник¹, Э.И. Чичинскас¹, А.О. Кравченко², Ю.А. Каретин¹, И.М. Ермак²

¹Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

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

Электронный адрес: kalitnik85@gmail.com

Полисахариды красных водорослей – каррагинаны представляют собой сульфатированные галактаны, состоящие из остатков D-галактозы, соединенных регулярно чередующимися β -(1-4) и α -(1-3) гликозидными связями, относятся к растворимым пищевым волокнам и проявляют разнообразную биологическую активность.

Ранее нами было показано, что каппа/бета-каррагинан из дальневосточной красной водоросли *Tichocarpus crinitus* стимулирует *in vitro* синтез цитокинов иммунокомпетентными клетками крови человека, проявляет при пероральном применении у мышей *in vivo* иммуномодулирующее действие, оказывая влияние как на синтез про- и противовоспалительных цитокинов, так и на функциональную активность перитонеальных лейкоцитов (Yermaketal., 2012, Kalitniketal., 2016, Kalitniketal., 2017).

В настоящем исследовании *in vivo* было показано, что каппа/бета-каррагинан при пероральном введении в течение 7 дней в дозе 100 мг/кг стимулирует индукцию интерферона (ИНФ-гамма), интерлейкина-12 (ИЛ-12), умеренно стимулирует синтез провоспалительного интерлейкина-1 (ИЛ-1бета) и индуцирует синтез противовоспалительного цитокина ИЛ-4 иммунокомпетентными клетками крови мышей, показатель которого в 2 раза выше по сравнению со спонтанной индукцией. Кроме того, изучено действие каррагинана при пероральном использовании на синтез цитокинов при экспериментально индуцированной эндотоксемии, вызванной внутрибрюшинным введением бактериального эндотоксина – ЛПС. Содержание ИЛ-1 бета в сыворотках мышей, получавших каррагинан перорально в течение 7 дней, было на 40 % выше по сравнению с контрольной группой, но в 2 раза меньше, чем после однократной внутрибрюшинной инъекции ЛПС. Кроме того, пероральное применение каррагинана до инъекции ЛПС способствует снижению продукции провоспалительного ИЛ-1 более чем в 2 раза по сравнению с группой экспериментальной индуцированной эндотоксемии.

Также были исследованы *in vivo* эффекты каппа/бета-каррагинана, в том числе в комбинации с ЛПС, на функциональную активность перитонеальных макрофагов мышей. Степень клеточной активации оценивали по морфологическим изменениям клеток с помощью комплекса линейных и квазифрактальных параметров внешней морфологии распластанных клеток. Было показано, что пероральное введение каррагинана в течение 7 дней способствует повышению клеточной активности и подвижности перитонеальных макрофагов. Действие каррагинана на клетки проявляется в уменьшении плотности и увеличении площади и лакуарности макрофагов по сравнению с интактными клетками. При этом каррагинан активировал клетки в меньшей степени, чем ЛПС, действие которого на перитонеальные макрофаги мышей индуцирует чрезмерную воспалительную активацию, приводящую в некоторых случаях к разрушению и гибели клеток. Совместное действие ЛПС и каррагинана *in vivo* на макрофаги способствует уменьшению интенсивности воспалительного ответа организма, индуцированного ЛПС.

Таким образом, каппа/бета-каррагинан проявляет избирательное действие на синтез про- и противовоспалительных цитокинов клетками крови и функциональную активность перитонеальных макрофагов и проявляет *in vivo* иммунопротекторное действие, уменьшая интенсивность развития воспалительного процесса, индуцированного ЛПС.

Работа выполнена при поддержке гранта ДВО РАН № 15-1-5-003.

**Капсульные полисахариды антибиотикоустойчивых бактерий *Acinetobacter baumannii*:
строение и расщепление бактериофагами**

А.А. Касимова^{1,4}, Н.П. Арбатский¹, А.С. Шашков¹, М.М. Шнайдер², А.В. Попова³,
Ю.А. Книрель¹

¹Институт органической химии РАН им. Н.Д. Зелинского, Москва

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

³Московский физико-технический институт, Москва

⁴Высший химический колледж РАН, Российский химико-технологический университет
им. Д.И. Менделеева, Москва

Электронная почта: nastia-kasimova979797@mail.ru

Acinetobacter baumannii – вид грамотрицательных условно-патогенных бактерий, являющихся одним из наиболее распространенных возбудителей внутрибольничных инфекций, таких как менингит, эндокардит, пневмония, инфекции мочеполовых путей, сепсис. Их лечение осложняется способностью бактерий приобретать и накапливать различные механизмы антибиотикоустойчивости, что делает актуальным поиск альтернативных способов борьбы с инфекциями. Одним из них может стать фаготерапия, основанная на лизисе бактериальных клеток вирусами бактерий – бактериофагами. Клетки *A. baumannii* окружены защитной капсулой, состоящей из капсульного полисахарида (КПС). Широкое структурное разнообразие КПС, характерное для *A. baumannii*, обусловлено вариабельностью генного состава хромосомного локуса, кодирующего ферменты биосинтеза КПС. Предпосылкой для инфицирования клеток бактериофагами является расщепление КПС специфическими фаговыми деполимеразами.

В настоящей работе нами установлены структуры КПС шести штаммов *A. baumannii* (RCH51 [1], A388, LUN5534, G21, B11911 [2], SGH0703). КПС выделяли водно-фенольной экстракцией, очищали гель-хроматографией и изучали с помощью моносахаридного анализа и одномерной (¹H и ¹³C) и двумерной спектроскопии ЯМР (¹H,¹H COSY, ¹H,¹H TOCSY, ¹H,¹H ROESY, ¹H,¹³C HSQC и ¹H,¹³C HMBC). Кроме широко распространенных моносахаридов, в КПС обнаружены производные 5,7-амино-3,5,7,9-тетрадезоксинон-2-улозоновых кислот с L-глицеро-L-манно-конфигурацией (псевдаминовая кислота) и D-глицеро-L-альтро-конфигурацией (8-эпиацинетиаминовая кислота). В состав КПС трех штаммов входит ацеталь пировиноградной кислоты с галактозой. Методами спектроскопии ЯМР и масс-спектрометрии высокого разрешения с ионизацией электрораспылением идентифицированы продукты гидролитического расщепления деполимеразами бактериофагов трех штаммов *A. baumannii* с установленными ранее структурами (AB5256, AYE, B8300). Изучение строения КПС *A. baumannii* и механизмов их расщепления фаговыми деполимеразами продолжается.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 17-04-0125.

1. Kenyon J.J., Kasimova A.A., Shneider M.M., Shashkov A.S., Arbatsky N.P., Popova A.V., Miroshnikov K.A., Hall R.M., Knirel Y.A. // Microbiology. 2017, V. 163. P. 355-363.

2. Kasimova A.A., Shneider M.M., Shashkov A.S., Arbatsky N.P., Popova A.V., Miroshnikov K.A., Knirel Y.A. // Biochemistry (Moscow). 2017. V. 82. P. 483-489.

Липополисахариды морских бактерий рода *Pseudomonas*

М.С. Кокоулин, Е.В. Соколова, Л.А. Романенко, Ю.Н. Елькин, Н.А. Командрова
 Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
 Электронная почта: maxchem@mail.com

В настоящее время эндотоксины наземных микроорганизмов рода *Pseudomonas* исследованы довольно подробно, структуры их О-антигенных полисахаридов содержат ряд необычных, редких моносахаридов и заместителей неуглеводной природы. Информация о липополисахаридах (ЛПС) непатогенных представителей данного рода, выделенных из морских источников, крайне ограничена.

Мы провели структурное исследование ЛПС морских представителей грамотрицательных бактерий *Pseudomonas xanthomarina* КММ 1447^T, *P. stutzeri* КММ 226 и *P. glareae* КММ 9500^T изолированных из различных источников, и изучили их биологическую активность. В ходе исследования установлены структуры О-специфических полисахаридов (ОПС) и липидов А всех трех штаммов. Показано, что клеточная стенка микроорганизма *P. xanthomarina* КММ 1447^T содержит два полисахарида различной структуры в соотношении ~ 3:1. Повторяющееся звено основного полисахарида имеет структуру: $\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-GlcpNAcAR}\text{-}(1\rightarrow$, где R – L-Ala или Gly (30%). Второй полисахарид построен из разветвленных трисахаридных повторяющихся звеньев: $\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-D-Galp}^{\text{I}}\text{-}(1\rightarrow 3)\text{-}\beta\text{-D-Galp}^{\text{II}}\text{-}(1\rightarrow 3)\text{-}[\beta\text{-D-Glcp4(Dhpl)}\text{-}(1\rightarrow 4)]\text{-}\beta\text{-D-GalpNAc}\text{-}(1\rightarrow$, где Dhpl – лактон (2R,4R)-2,4-дигидроксипентановой кислоты. ОПС *P. stutzeri* КММ 226 построен из дисахаридных повторяющихся звеньев и имеет следующую структуру: $\rightarrow 2)\text{-}\alpha\text{-L-Rhap}\text{-}(1\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-D-GlcpNAc}\text{-}(1\rightarrow$. Повторяющееся звено ОПС *P. glareae* КММ 9500^T представлено линейным тетрасахаридом: $\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-GlcpA}\text{-}(1\rightarrow 3)\text{-}\beta\text{-L-Rhap}\text{-}(1\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Glcp}\text{-}(1\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-Sug7,9(S-Pyr)}\text{-}(2\rightarrow$, где Sug – 5-ацетамидо-3,5-дидезокси-D-глицеро-L-манно-нонулозоновая кислота, Pyr – остаток пировиноградной кислоты.

Установлено, что микроорганизмы всех трех штаммов имеют идентичную структуру липида А, которая представлена дифосфорилированной диаминогенциобиозой, симметрично ацилированной высшими жирными кислотами 10:0 (3-ОН) и 12:0 (3-О-12:0) в положения 3, 3' и 2, 2', соответственно.

Исследование биологической активности выделенных ЛПС по их способности индуцировать синтез медиаторов воспалительного процесса в клетках цельной крови человека показало, что они являются слабыми индукторами синтеза ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ИЛ-8, а также проявляют антагонистические свойства по отношению к эндотоксину *Escherichia coli*.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-03207.

Лектин из двустворчатого моллюска *Glycymeris yessoensis*Т.О. Мизгина¹, И.В. Чикаловец^{1,2}, В.И. Молчанова¹, О.В. Черников¹¹ Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток² Дальневосточный федеральный университет, ВладивостокЭлектронный адрес: tanya.tasha@mail.ru

Лектины – это группа белков/гликопротеинов, содержащих один или несколько углевод-распознающих доменов и обладающих свойством обратимо и избирательно связывать углеводные детерминанты гликоконъюгатов без изменения их ковалентной структуры. Функции лектинов разнообразны, в частности, они являются компонентом врожденного иммунитета у представителей разных групп беспозвоночных и позвоночных животных. Лектины морских беспозвоночных - это удобная экспериментальная модель для изучения эволюционных аспектов становления и функционирования системы неспецифического, или врожденного иммунитета.

В настоящее время постоянно идет поиск новых источников лектинов из морских беспозвоночных. Объектом исследования был выбран двустворчатый моллюск *Glycymeris yessoensis* – широко распространенный тихоокеанский вид двустворчатых моллюсков, имеющий промысловые скопления, являющийся перспективным объектом для добычи.

Методом гемагглютинации определено, что максимальное количество лектина содержится в гемолимфе моллюска. Последовательными методами аффинной хроматографии и гель-фильтрации (FPLC) был выделен лектин (GYL) с молекулярной массой по данным MALDI-TOF масс-спектрометрии, 18118,5 Да. Установлено, что лектин максимально активен в интервале pH 9-10 и полностью инактивируется при нагревании до 45 °С в течение 30 минут, является Ca²⁺-зависимым лектином. Был получен конъюгат лектина с ферментной меткой и методом твердофазного лектин-ферментного анализа установлена его тонкая углеводная специфичность. Показано, что GYL не ингибируется моно-, ди- и олигосахаридами, а проявляет активность к углеводным цепям гликопротеинов муцинового типа.

Изучено изменение уровня лектина в ответ на внешнее вторжение чужеродных агентов. Установлено, что концентрация GYL увеличивается сразу же после введения дрожжей *Pichia pastoris* и бактерий *Vibrio proteolyticus*, но по мере удаления патогенов из организма моллюска, уровень лектина возвращается к исходному значению. Можно предположить, что исследуемый лектин является компонентом иммунной системы моллюска и участвует в защите организма беспозвоночного от воздействия чужеродных агентов.

Методы визуализации и управления состояниями единичных молекул

В.А. Миличко

Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург

Электронный адрес: v.milichko@phoi.ifmo.ru

Изучение квантово-механических состояний единичных атомов и молекул, а также влияние на них внешних возмущений (например, свет или деформация), является фундаментальной проблемой современной физики и химии, вызывающей не меньшие сложности непосредственно для эксперимента. Большинство методов основаны на процессах взаимодействия света либо наноразмерных элементов с молекулами, однако имеют принципиальные ограничения: дифракционный предел разрешения субволновых структур, влияния сторонних объектов на состояние молекул в процессе исследования, технические сложности реализации и другое.

За последние 10 лет был совершен качественный скачок в данной области: развиты новые подходы к визуализации единичных молекул в обычных условиях специальными методами оптической [1,2] и атомно-силовой микро-спектроскопий [3,4], съемке единичных молекул в движении [5]; а также продемонстрированы экспериментальные подходы к управлению их квантово-механическими состояниями [6,7] (Рис. 1). Это, отчасти, обеспечено усовершенствованием технических возможностей, но в основном обязано развитию новых физических принципов, что открывает большие перспективы для дальнейших исследований «поведения» молекулы в ее реальных условиях.

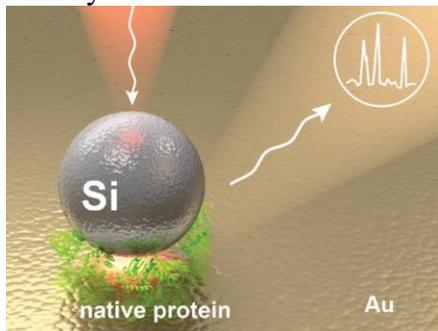


Рис. 1. Концепт управления и детектирования конформаций единичных молекул BSA в наноразмерном оптическом резонаторе.

В докладе представлен обзор таких экспериментальных подходов и обсуждаются их физические принципы, существующие ограничения и достижения.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 17-19-01637 «Разработка диэлектрических и гибридных наноструктур как многофункциональных элементов биофотоники».

1. Celebrano, M., Kukura, P., Renn, A., Sandoghdar, V. // Nature Photonics. 2011. V. 5. P. 95-98.
2. Fang, C., Frontiera, R. R., Tran, R., Mathies, R. A. // Nature. 2009. V. 462. P. 200-204.
3. Gross, L., Mohn, F., Moll, N., Meyer, G., Ebel, R., Abdel-Mageed, W. M., Jaspars, M. // Nature Chemistry. 2010. V. 2. P. 821-825.
4. Yano, T., Verma, P., Saito, Y., Ichimura, T., Kawata, S. // Nature Photonics. 2009. V. 3. P. 473-477.
5. Peplow, M. // Nature. 2017. V. 544. P. 408-410.
6. Imada, H., Miwa, K., Imai-Imada, M., Kawahara, S., Kimura, K., Kim, Y. // Nature. 2016. V. 538. P. 364-367.
7. Chikkaraddy, R., deNijs, B., Benz, F., Barrow, S. J., Scherman, O. A., Rosta, E., Demetriadou, A., Fox, P., Hess, O., Baumberg, J. J. // Nature. 2016. V. 535. P. 127-130.

Синтез и противоопухолевая активность О-углеводных конъюгатов 1,4-нафтохинонов негликозидной природы

Д.Н. Пелагеев^{1,2}, С.А. Дышловой^{1,2}, К.С. Борисова¹, Н.Д. Похило¹

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

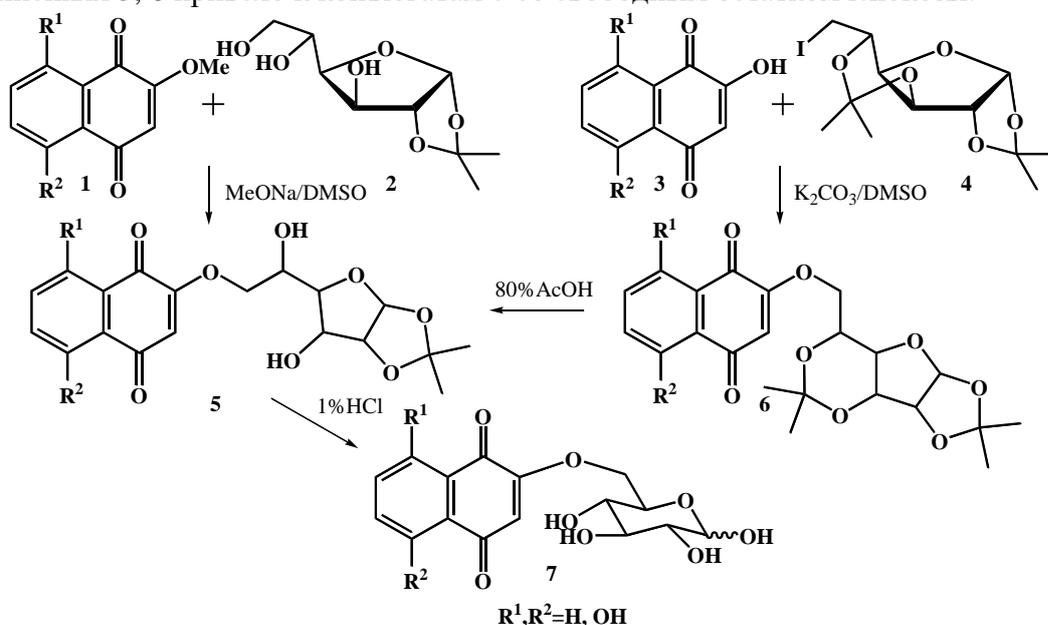
²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

Электронная почта: pelageev@piboc.dvo.ru

Для повышения селективности противоопухолевых препаратов по отношению к опухолевым клеткам в последнее время всё больше внимания привлекает идея конъюгировать их с молекулами углеводов. Эта идея основана на так называемом эффекте Варбурга, который описывает и объясняет способность опухолевых клеток и тканей потреблять большее количество глюкозы по сравнению с нормальными неопухолевыми клетками. Конъюгаты противоопухолевых препаратов с глюкозой представляются наиболее подходящими производными для разработки препаратов, процессом-мишенью которых является эффект Варбурга, т.к. обладают высокой водорастворимостью и стабильностью в сыворотке крови человека.

1,4-Нафтохиноны – распространенная группа природных соединений, обладающих широким спектром биологической активности, в том числе противоопухолевой. Разнообразная биологическая активность нафтохинонов делает эти соединения перспективными для поиска среди них веществ-лидеров, прототипов лекарственных средств. Для лечения некоторых видов опухолевых заболеваний, используются соединения, содержащие в своей структуре хиноидные фрагменты, например, доксорубин, митомицин, митоксантрон и другие.

В данной работе были синтезированы хинон-углеводные конъюгаты нового типа, в которых хиноидный фрагмент соединен с фрагментом глюкозы негликозидной связью в положении 6. Для получения целевых соединений было использовано два подхода: перэтерификация метиловых эфиров 2-гидрокси-1,4-нафтохинонов **1** с моноацетонглюкозой **2** и нуклеофильное замещение атома йода в 6-йодпроизводном диацетонглюкозы **4** на атом кислорода 2-гидрокси-1,4-нафтохинонов **3**. Снятие изопропилиденовых защитных групп в соединениях **5**, **6** привело к конъюгатам **7** со свободным остатком глюкозы.



Для полученных хинон-углеводных конъюгатов **5**, **6**, **7** была изучена цитотоксическая активность по отношению к нормальным и опухолевым клеткам человека. Некоторые из этих соединений проявили повышенную активность по отношению к опухолевым клеткам по сравнению с нормальными.

Биохимические аспекты солеустойчивости галофитов

О.А. Розенцвет, В.Н. Нестеров, Е.С. Богданова
Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти
Электронная почта: olgarozen55@mail.ru

Избыточное содержание солей в почве является одним из главных факторов окружающей среды, лимитирующих рост и продуктивность растений. Растения галофиты, составляющие 2 % от всех видов континентальной флоры, способны осуществлять полный жизненный цикл на почвах с высоким содержанием солей. Адаптация галофитов к засолению сформировалась в процессе филогенеза и затрагивает разные уровни организации: молекулярный, клеточный, организменный, популяционный, фитоценотический. К биохимическим механизмам устойчивости относятся: избирательное накопление или исключение ионов; контроль ионного поглощения корнями и транспорта в листья; компартиментализация ионов на уровне клетки и целого растения; синтез совместимых растворенных веществ; изменение пути фотосинтеза; изменение в структуре мембран; индукция антиоксидантных ферментов; индукция гормонов растений. Не все галофиты обладают целым спектром биохимических механизмов. По способности накапливать соли в надземной части галофиты разделяют на «соленакапливающие» – эугалофиты, «солевывделяющие» – криногалофиты, «соленепроницаемые» – гликогалофиты. В докладе обсуждается специфичность состава мембранных липидов разных типов галофитов в естественных условиях произрастания. На основании анализа биохимических компонентов (липидов, белков, пигментов, аминокислот, углеводов и пр.) установлена дифференциация дикорастущих галофитов в соответствии с типом регуляции солевого обмена.

Учитывая, что фундаментальной основой адаптации растений к солевому стрессу является способность клеток контролировать транспорт соли через мембраны, исследованы структуры мембран отдельных органелл. В составе мембран хлоропластов и митохондрий обнаружены специфические области мембран – липидные рафты. Об этом свидетельствует наличие опалесцирующей полосы в зоне 15% градиента сахарозы и высокая доля цереброзидов и стеринов в составе мембранных липидов, экстрагированных из данной зоны. Выявленная зависимость состава рафтоспецифичных липидов у галофитов, различающихся по стратегии соленакопления, дает основание предполагать, что функциональная роль данных структур связана с солеустойчивостью и подтверждает участие рафтов в адаптации растений к абиотическим факторам окружающей среды.

Структура O-специфических полисахаридов морских альфапротеобактерий *Poseidonocella pacifica* КММ 9010^T и *P. sedimentorum* КММ 9023^T. Противоопухолевая активность O-дезацелированного липополисахарида *P. pacifica* КММ 9010^T

Е.С. Рубцов¹, М.С. Кокоулин², А.С. Кузьмич², Л.А. Романенко², Н.А. Командрова²

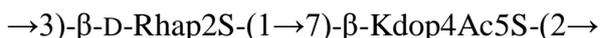
¹Дальневосточный Федеральный университет, Владивосток

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

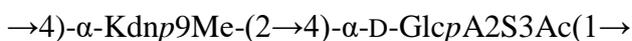
Электронная почта: rubtsov60494@gmail.com

Структурные исследования микробных гликополимеров до настоящего времени не теряют своей актуальности. Особенно это касается липополисахаридов морских грамотрицательных бактерий, исследование которых начато относительно недавно, но, несмотря на это, уже получено достаточно много интересных результатов. Наиболее изученными из них являются представители морских бактерий класса Gammaproteobacteria. Углеводсодержащие биополимеры микроорганизмов класса Alphaproteobacteria, с точки зрения структурных исследований и их биологической активности, практически не изучены.

Мы провели структурное исследование липополисахаридов (ЛПС) морских альфапротеобактерий *Poseidonocella pacifica* и *P. sedimentorum*, изолированных из образцов донных отложений, собранных в прибрежной зоне залива Петра Великого, Японского моря. В ходе исследования установлены полные структуры O-специфических полисахаридов (ОПС) обоих штаммов. Показано, что клеточная стенка микроорганизмов *P. pacifica* и *P. sedimentorum* содержит сульфатированные ЛПС. ОПС *P. pacifica* построен из повторяющихся дисахаридных звеньев, состоящих из сульфатированных остатков D-рамнозы (D-Rhap2S) и 2-кето-3-дезоксид-глицеро-D-манно-октулозоновой кислоты (Kdop5S), частично ацелированной (~60%) по 4 положению:



ОПС *P. sedimentorum* состоит из дисахаридных повторяющихся звеньев, содержащих остатки метилированной 2-кето-3-дезоксид-глицеро-D-галакто-нонулозоновой кислоты (Kdnp9Me) и сульфатированной D-глюкуроновой кислоты (D-GlcpA2S3Ac), ацелированной по 3 положению (~100%):



Как известно, сульфатированные полисахариды обладают выраженным противоопухолевым действием. Нами была исследована противоопухолевая активность деацелированного ЛПС (ДЛПС) *P. pacifica* на моделях с использованием нормальных эпидермальных клеток мыши JB6 Cl41, меланомы человека SK-MEL-5, колоректальной аденокарциномы человека HT-29 и рака молочной железы MCF-7. Показано, что гликополимер не обладает цитотоксической активностью по отношению к клеткам JB6 Cl41 и SK-MEL-5. Незначительный эффект действия ДЛПС был выявлен по отношению к клеткам HT-29 и MCF-7, однако, его действие (до 100 мкг/мл) не приводило к 50 % гибели исследованных клеток в течение 48 ч. Установлено, что при максимально исследуемой концентрации (100 мкг/мл) он ингибирует неопластическую трансформацию клеток JB6 Cl41, индуцированную эпидермальным фактором роста (EGF) на 53%. Кроме того, с помощью метода мягкого агара было показано, что ДЛПС ингибирует самопроизвольное формирование и рост колоний клеток SK-MEL-5 на 67 %, HT-29 на 85 % и MCF-7 на 91.4 %. Таким образом, сульфатированных ЛПС морских грамотрицательных альфапротеобактерий представляют большой интерес для их дальнейшего изучения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований ДВО РАН «Дальний Восток» (проект № 15-I-5-001_о).

Концентрирование антибиотиков цефалоспоринового ряда в динамических условиях с применением сорбентов на основе природных алюмосиликатов

М.Г. Смирнова, Л.И. Соколова, Н.П. Шапкин
Дальневосточный федеральный университет, Владивосток
Электронная почта: mariya.g_smirnova@mail.ru

Антибиотики цефалоспоринового ряда широко используются в медицине, ветеринарии, сельском хозяйстве и на предприятиях аквакультуры [1,2]. Зачастую чрезмерное применение лекарственных средств приводит к появлению резистентности микроорганизмов, накоплению препаратов в продуктах питания и загрязнению окружающей среды. Аналитическое определение антибиотиков затруднено из-за их низкого содержания в исследуемом объекте. Одним из решений проблемы может являться применение природных алюмосиликатов для концентрирования цефалоспориновых антибиотиков из биологических объектов и разбавленных растворов [3].

Цель настоящей работы – исследование возможности применения сорбентов на основе природных алюмосиликатов: вермикулита Кокшаровского месторождения (Приморский край), каолинита Сухоложского месторождения (Иркутская область) и монтмориллонитовой глины (Приморский край) – для извлечения цефалоспориновых антибиотиков в динамическом режиме.

Проведено исследование сорбции стандартного раствора цефазолина, цефуроксима, цефтриаксона, цефепима с содержанием антибиотика 0,05 мг/мл в динамических условиях при соотношении сорбат-сорбент 5:1 и диаметре колонки 10 мм при атмосферном давлении. Показано, что максимальная степень поглощения препаратов (более 80%) достигается при использовании сорбента на основе вермикулита, модифицированного кислотой, однако значительного элюирования (более 50%) не наблюдается. Наиболее эффективным для концентрирования лекарственных средств является сорбент на основе вермикулита, модифицированного полиэтиленом, применение которого позволяет достичь высокое значение степени поглощения (более 70%) и степени элюирования (более 90%).

Исследована возможность сорбции цефазолина из биологических жидкостей в динамическом режиме. Установлено отсутствие эффективности извлечения антибиотика из плазмы крови при использовании сорбентов на основе природных алюмосиликатов.

Исследованы сорбционные характеристики обожженного каолинита в динамических условиях с применением стандартных растворов цефтриаксона с содержанием препарата 0,1 мг/мл, 0,05 мг/мл, 0,02 мг/мл, 0,01 мг/мл. Рассчитаны степени поглощения цефтриаксона для выше приведенных содержаний, которая составила 19%, 17%, 16%, 10%, соответственно. Показано, что наиболее воспроизводимые результаты ($\Delta \pm 8\%$) для степени поглощения наблюдаются при использовании стандартного раствора с содержанием антибиотика 0,05 мг/мл. Степень элюирования лекарственного препарата составила $>99\%$ при многократном элюировании антибиотика. Рассчитано значение полной обменной динамической емкости, которое составило 0,39 ммоль-э/г.

1. Santos L., Ramos F. // Trends in Food Science & Technology. 2016. V. 52. P. 16-30.

2. Chiesa L., Nobile M., Arioli F., Britti D., Trutic N., Pavlovic R., Panseri S. // Food Chemistry. 2015. V. 185. P. 7-15.

3. Чучалина И.В., Соколова Л.И., Земнухова Л.А. // Электронный научный журнал «ИССЛЕДОВАНО В РОССИИ». 2006. С. 1842-1851.

Структура и противоопухолевая активность фукоидана из бурой водоросли *Sargassum duplicatum*

В.В. Суриц, Р.В. Усольцева, Н.М. Шевченко, С.И. Иванникова, С.П. Ермакова
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
Электронная почта: suritsw@yandex.ru

Бурые водоросли представляют собой легко культивируемый источник интересных по структуре и биологической активности полисахаридов: альгиновых кислот, ламинаранов и фукоиданов. Аналоги ламинаранов и альгиновые кислоты были обнаружены в наземных объектах, но в море распространены более широко, а фукоиданы обнаружены только в морских организмах.

Фукоиданы являются перспективными объектами исследования благодаря их широкому спектру действия и возможности получения в промышленных масштабах. Большое значение имеет исследование полисахаридной композиции бурых водорослей, выделение индивидуальных фукоиданов и установление характеристик их структуры, а также изучение биологического действия соединений с установленной структурой.

Целью данной работы является выделение фукоидана из ранее неизученной бурой водоросли *Sargassum duplicatum* (Южно-Китайское море, Вьетнам), определение его структурных характеристик, а также исследование противоопухолевой активности *in vitro*.

Из бурой водоросли *S. duplicatum* по разработанной оптимальной схеме выделения, включающей экстракции растворами этанола и соляной кислоты, анионообменную хроматографию на DEAE-целлюлозе и DEAE Macro-Prep, очистку от полифенолов, концентрирование и диализ, получена высокоочищенная фракция фукоидана SdF с выходом 0,15% от веса обезжиренной водоросли. Исследованы структурные характеристики выделенного фукоидана. Показано, что фукоидан SdF представляет собой высокосульфатированный (31,7%) и ацетилированный галактофукан с соотношением фукозы и галактозы 1:1.

Для упрощения структуры нативного фукоидана SdF последовательно проведено его дезацетилирование (dA) и десульфатирование (dS). Исследована структура полученного модифицированного полисахарида SdFdAdS методами одно- и двумерной спектроскопии ЯМР. Определено, что десульфатированный и дезацетилированный фукоидан SdFdAdS содержит основную цепь из чередующихся 1,4-связанных остатков α -L-фукопиранозы и β -D-галактопиранозы с небольшим количеством ответвлений в виде единичных остатков α -L-фукозы.

Изучено противоопухолевое действие галактофукана SdF *in vitro* по отношению к трем типам клеток карциномы толстого кишечника HCT-116, HT-29 и DLD-1. С помощью MTS-метода установлено, что исследуемый фукоидан не обладает цитотоксичностью. Методом мягких агаров показано, что SdF ингибирует формирование и рост колоний клеток рака кишечника HCT-116, HT-29 и DLD-1 соответственно на 43, 23 и 70%.

Таким образом, нами впервые выделен и исследован новый биологически активный фукоидан из *S. duplicatum* с необычной структурой (чередующиеся 1,4-связанные остатки фукозы и галактозы в основной цепи). Данные о фукоиданах с подобной структурой в литературе отсутствуют.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 16-33-60023 и 16-54-540004.

Нормонанхоцидины G и H – новые пентациклические гуанидиновые алкалоиды из дальневосточной губки *Monanchora pulchra*

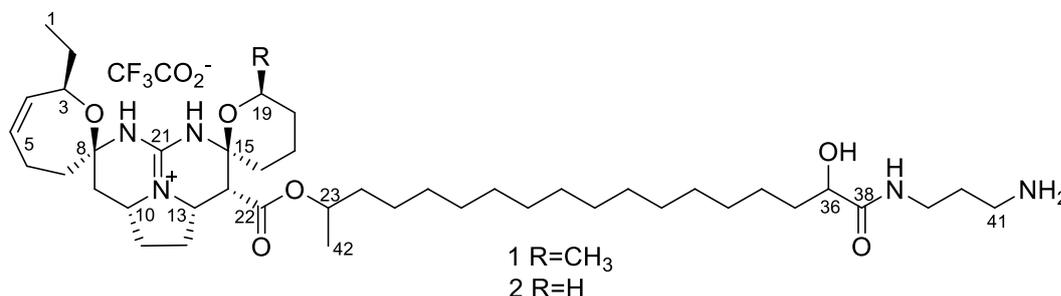
К.М. Табакмахер, Т.Н. Макарьева, Р.С. Попов, А.С. Кузьмич

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

Электронная почта: dark_xen@mail.ru

Дальневосточная морская губка *Monanchora pulchra* является богатым источником пентациклических гуанидиновых алкалоидов (ПГА). Данная группа вторичных метаболитов представляет интерес для исследователей всего мира в связи со своим необычным химическим строением и широким спектром биологической активности [1]. В период с 2010 по 2016 гг. нами были выделены 13 ПГА из разных образцов *M. pulchra* [2-7].

В ходе продолжающегося исследования губки *M. pulchra* выделены два новых ПГА, нормонанхоцидины G (**1**) и H (**2**), содержащие необычный фрагмент – производное ω-2-гидрокси-жирной кислоты. Их структуры установлены с помощью физико-химических методов, таких как масс-спектрометрия и ЯМР-спектроскопия, включая двумерные эксперименты: COSY, HMBC и HSQC.



Соединения (**1**) и (**2**) проявляют цитотоксическую активность в отношении трех линий опухолевых клеток человека (табл. 1). Кроме того, новые метаболиты в нецитотоксических концентрациях значительно ингибируют способность к миграции клеток линии HeLa (IC₅₀ 0,8 μМ и 3,8 μМ, соответственно).

Таблица 1 - Цитотоксическая активность исследуемых соединений

Вещество	IC ₅₀ , μМ		
	THP-1	HL-60	HeLa
нормонанхоцидин G (1)	3,7	3,6	3,3
нормонанхоцидин H (2)	19,8	13,5	21,0

Работа выполнена при поддержке гранта Российского Научного Фонда 17-14-01065.

- Berlinck RGS, Romminger S. // Nat. Prod. Rep. 2016. V. 33. P. 456–49.
- Guzii A.G., Makarieva T.N., Denisenko V.A., Dmitrenok P.S., Kuzmich A.S., Dyshlovoy S.A., Krasokhin V.B., Stonik V.A. // Org. Lett. 2010. V. 12. P. 4292–4295.
- Makarieva T.N., Tabakmaher K.M., Guzii A.G., Denisenko V.A., Dmitrenok P.S., Shubina L.K., Kuzmich A.S., Lee H.S., Stonik V.A. // J. Nat. Prod. 2011. V. 74. P. 1952–1958.
- Makarieva T.N., Tabakmaher K.M., Guzii A.G., Denisenko V.A., Dmitrenok P.S., Kuzmich A.S., Lee H.S., Stonik V.A. // Tetrahedron Lett., 2012. V. 53. P. 4228–4231.
- Tabakmakher K.M., Guzii A.G., Denisenko V.A., Dmitrenok P.S., Lee H.S., Makarieva T.N. // Nat. Prod. Commun. 2013. V. 8. P. 1399–1402.
- Tabakmakher K.M., Makarieva T.N., Denisenko V.A., Guzii A.G., Dmitrenok P.S., Kuzmich A.S., Stonik V.A. // Nat. Prod. Commun. 2015. V. 10. P. 913–916.
- Tabakmakher K.M., Makarieva T.N., Shubina L.K., Denisenko V.A., Guzii A.G., Popov R.S., Kuzmich A.S., Lee H.S., Lee Y.J., Stonik V.A. // Nat. Prod. Commun. 2016. V. 12. P. 1817–1820.

Гуминовые вещества в медицине и экологии: возможности и проблемы примененияВ.А. Терехова^{1,2,3}, О.С. Якименко¹, Е.В. Федосеева³, С.В. Пацаева¹, К.А. Кыдралиева⁴¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва²Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва³Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва⁴Институт химии и химической технологии НАН, Бишкек, КыргызстанЭлектронный адрес: terekhova@mail.bio.msu.ru

Природные гуминовые вещества (ГВ) представляют собой особую предельную стадию физического, химического и микробиологического процессов трансформации органического вещества, результат гумификации продуктов животного, растительного и микробного происхождения. ГВ- основа органической составляющей почвенной и водной сред. Их содержание в морских и океанических водах 0,1–3 мг/л, в речных и озерных — 2-20 мг/л, в болотах—до 200 мг/л, а в почвах 1–12%. Наряду с другими существует гипотеза образования гумуса с участием грибных пигментов - меланинов. Широко известны полезные свойства гуминовых продуктов, которые используются в медицине, ветеринарии, животноводстве, растениеводстве, экологии, природоохранной сфере, других отраслях народного хозяйства. Главными источниками промышленных гуминовых препаратов (ГП) служат торф, бурый уголь, сапропель, горючие сланцы, которые содержат 65-95% ГВ.

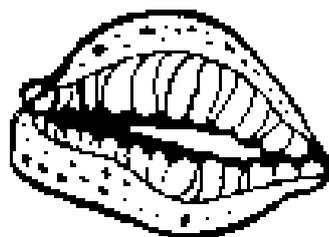
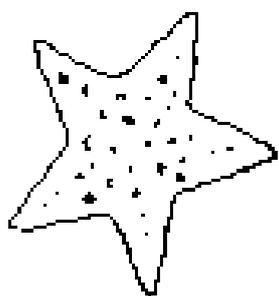
По химической природе ГВ представляют, как сложную смесь макромолекул переменного состава и нерегулярного строения или как супрамолекулярные комплексы [1]. Из-за известной нестабильности химического состава природных гуминовых веществ законодательно утвержденные требования к лекарственным средствам ограничивают применение гуминовых препаратов в фармацевтике. В качестве определенной альтернативы природным соединениям рассматриваются синтезированные лекарственные гуминовые продукты (гуминоподобные), состав которых поддается контролю.

К гуминовым препаратам, используемым в экологической практике, в том числе для сорбции токсичных компонентов в загрязненных почвах и водах, современные требования менее жесткие. Однако в связи с ростом рынка спроса и предложений этих продуктов проблема сертификации ГП становится все более актуальной.

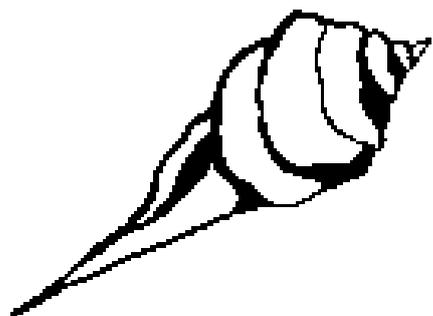
В работе исследованы токсические свойства и ремедиационные эффекты широкого спектра промышленных гуминовых препаратов из разных сырьевых источников, которые применяют для очистки и восстановления природных сред [2,3]. Показана необходимость анализа экологической безопасности промышленных ГП с привлечением экспресс-тестирования. В программу оценки биоактивности гуминовых препаратов предлагается включать высшие растения (для выявления эффектов стимуляции) и “батарею” биотестов на основе видов организмов, представляющих основные трофические уровни экосистем (для определения токсичных концентраций).

Работа выполнена при поддержке грантов ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (ГК 02.740.11.06993); РФФИ № 16-34-00690 mol_a.

1. Trubetskoy O., Hatcher P.G., Trubetskaya O. // Chemistry and Ecology. 2010. V. 26. P. 315 – 325.
2. Yakimenko O. S. et al. // Functions of Natural Organic Matter in Changing Environment. – Springer, Dordrecht. 2013. P. 1089-1093.
3. Yakimenko O.S., Terekhova V.A.. // Eurasian Soil Science. 2011. V.44. P. 1222-1230.



Стендовые доклады



GPS-система мозга человека

К.И. Бичахчян

*Амурская государственная медицинская академия, Благовещенск*Электронная почта: 13_kirill_99@mail.ru

Каким образом мы определяем свое положение в пространстве? Как мы ежедневно находим дорогу с работы домой даже тогда, когда заходим по пути в магазин? Способность ориентироваться в пространстве – одна из жизненно важных функций мозга всех животных, однако долгое время ученые не могли сойтись во мнении, как мозгу это удастся. Первым ученым, поддержавшим идею существования в мозге своеобразной «карты местности», был Эдвард Толмэн (Edward Tolman), изучавший обучение крыс навигации.

В конце 1960-х годов Джон О'Кифф использовал методику вживления электродов для записи активности нейронов в области гиппокампа крыс, где и обнаружил первый элемент «GPS-системы мозга» – «клетки места». О'Кифф был не первым, кто осуществил запись нейронов гиппокампа, он впервые стал делать записи при нормальной активности животных, в то время как другие исследователи использовали ограниченный набор поведенческих тестов. Ученый изучил эти удивительные нейроны – «клетки места» – подробнее и выяснил, что их реакция никак не связана с сенсорными сигналами, а совокупность многих «клеток места» создает полную карту окружающего пространства.

Благодаря записи активности нейронов в новых областях в 2005 году супругам Мозер удалось обнаружить новый компонент системы ориентации – «клетки координатной сетки» (grid cells) в энторинальной коре (участке мозга рядом с гиппокампом). Отдельные нейроны, описанные супругами Мозер, активировались, когда крыса находилась в нескольких точках поля. Постепенно были открыты и другие элементы этой внутренней системы ориентации – «клетки направления» (head direction cells), и «краевые клетки» (border cells). На кафедре анатомии и оперативной хирургии я изготовил препараты головного мозга с целью показать энторинальную кору, для чего сделал поперечные срезы мозга. В височной доле вскрыл нижний рог бокового желудочка, где передо мной предстали гиппокамп, энторинальная зона. Литературные данные из отечественных источников скудны. Мне пришлось самому переводить статьи из американских и английских сайтов. Кроме этого, я заинтересовался белками, которые есть в составе гиппокампа. Особый интерес у меня вызвал реелин. Взятая из базы UniProt <http://www.uniprot.org/> первичная структура реелина в FASTA формате, включающая 3460 АМК была условно разбита на 10 участков по ~360 АМК (220 АМК в 10 участке) в каждом. Для каждого участка был проведен поиск белка-шаблона с известной третичной структурой по алгоритму BLAST и построение на основе шаблона 3D-модели на сервере SWISS-MODEL <https://swissmodel.expasy.org/>. Полученные 10 моделей были загружены в **Chimera 1.11.2**, где они были соединены между собой пептидными связями с образованием 3D-модели реелина.

Изучение работы сложных нейронных структур имеет важное значение для активно развивающейся области нейрокомпьютеров и робототехники, позволяя использовать элегантные природные решения в качестве технологических находок. Кроме фундаментального значения, изучение ориентационной системы мозга играет важную роль и для клинической практики.

Особенности иерсиниозов во Владивостоке

В.В. Бондаренко

Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Владивосток

Электронная почта: 314of@mail.ru

Иерсинеоз – острая антропозоонозная кишечная инфекция, сопровождающаяся токсико-аллергической реакцией, особенностью этой инфекции является, не только полиморфность ее проявлений, но мультиочаговость. Инкубационный период иерсиниоза длится не более недели. Клиника складывается из общетоксического синдрома, пятнисто-папулезных высыпаний, диспепсических расстройств; возможны гепатоспленомегалия, артропатический синдром, развитие острого аппендицита и особую сложность представляет генерализованная форма иерсиниоза. Осложнения иерсиниоза ввиду полиморфности проявлений и склонности к формированию аутоиммунных реакций довольно многообразны. Это могут быть воспалительные заболевания органов (миокардит, гепатит, холецистит, панкреатит), хирургические патологии (спаечная болезнь, кишечная непроходимость, аппендицит, перфорация стенки кишечника и перитонит), заболевания нервной системы (менингоэнцефалит), мочевого выделительного (гломерулонефрит) и опорно-двигательного (артриты, остеомиелиты) аппарата.

Особую сложность представляет диагностика этого заболевания. Выделение культуры от больного, из-за особенностей метаболизма бактерии затруднено. Иммунодиагностические методы диагностики часто недостаточно специфичны, чтобы позволить исключить другие заболевания.

Заболеваемость псевдотуберкулезом и иерсиниозом в РФ на протяжении многих лет остается на высоком уровне. По данным Центрального НИИ эпидемиологии Минздрава России, этот показатель варьирует по отдельным регионам страны и на некоторых территориях сохраняется достаточно высоким — до 40-50 и даже 138 на 100 тыс. населения. При этом отмечается, что заболеваемость среди детей в 3-4 раза выше, чем среди взрослых. Ежегодно в России регистрируется 4-5 тыс. случаев заболевания иерсиниозами (из них более 50% — дети до 14 лет).

По данным краевого Центра госсанэпиднадзора, в Приморском крае показатель заболеваемости иерсиниозами составил 23—29 на 100 тыс. населения. Во Владивостоке за этот же период соответственно 45,6 (выше аналогичного показателя по РФ в 7 раз), 38,2 и 32,5 на 100 тыс. населения.

Учитывая, характер заболевания, сложности при диагностике инфекции, наличие тяжелых осложнений, необходимо иметь настороженность при постановке диагноза. При поступлении больного тщательно собирать анамнез особое внимание уделяя эпидемиологической составляющей.

1. Bell R.G., Korenaga M., Wang C.H. // Immunology. 1987. V. 61. P. 221— 227.
2. Iriarte M., Cornelis G.R. // Microbiologia. 1996. V. 12. P. 267-280.

Ресурсная коллекция «Морской биобанк» ННЦМБ ДВО РАН

Т.Ю. Орлова, О.Г. Борзых, А.А. Зинов, Т.В. Морозова
Национальный научный центр морской биологии ДВО РАН, Владивосток
Электронный адрес: alien-og@mail.ru

Новый центр коллективного пользования ННЦМБ ДВО РАН Ресурсная коллекция «Морской биобанк» формирует, обрабатывает, каталогизирует, хранит и управляет образцами морских организмов для научных исследований, используя высокотехнологичное оборудование.

Целями и задачами ЦКП РК «Морской биобанк» являются:

- обеспечение проведения исследований на современном уровне, а также оказание услуг с использованием имеющихся коллекционных фондов и научного оборудования, в форме коллективного использования заинтересованными пользователями;
- повышение эффективности использования фондовых и живых коллекций, а также загрузки уникального высокотехнологичного оборудования, находящихся в распоряжении РК «Морской биобанк»;
- обеспечение достоверности результатов научных исследований в соответствии с международными протоколами сбора, каталогизации, поддержания и хранения биологических образцов морского происхождения;
- участие в подготовке специалистов и кадров высшей квалификации (студентов, аспирантов, докторантов) и просветительской работе с использованием коллекционных фондов и оборудования РК «Морской биобанк»
- реализация мероприятий программы развития РК «Морской биобанк».

ЦКП Ресурсная коллекция «Морской биобанк» организован в соответствии с Приказом директора ННЦМБ ДВО РАН №5 от 27 января 2017 г. на базе лабораторий и других подразделений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Национальный научный центр морской биологии Дальневосточного отделения Российской академии наук.

3D-модель хантингтина

Я.А. Васильев, П.Е. Бородин

Амурская государственная медицинская академия МЗ России, Благовещенск

Электронная почта: yaroslav-vasilev-97@mail.ru

Одним из важнейших белков нервной ткани является гентингтин (Htt). Уникальной особенностью этого белка является наличие рядом с N-концом полипептидной цепи повторяющейся последовательности остатков глутамина. Число глутаминовых повторов в Htt здоровых людей варьирует, но не превышает 35. Развитие хореи Гентингтона является следствием мутации в первом экзоне (EX1) по типу коротких тандемных повторов, приводящей к увеличению числа повторяющихся остатков глутамина, число которых может достигать 250 и более. Предполагается, что в мутантном белке mHtt полиглутаминовая область приобретает токсичную конформацию в виде β -структуры, в результате чего белок агрегирует и выпадает в осадок в виде амилоидных фибрилл. Время начала заболевания и его тяжесть напрямую зависят от числа повторов [1]. По меньшей мере десять нейродегенеративных заболеваний вызваны полиглутаминовыми экспансиями, включая хорею Гентингтона, спинальную и бульбарную мышечные атрофии и полиглутаминовую спиноцеребеллярную атаксию.

В связи с изложенным Htt представляет мишень при разработке новых эффективных лекарственных средств, создаваемых с помощью компьютерного дизайна. Для создания таких средств абсолютно необходимо знание 3D-структуры белка, устанавливаемой традиционно с помощью физико-химических методов (ЯМР-спектроскопия, Rg-структурный анализ, электронная криомикроскопия), требующих дорогостоящего оборудования и поглощающих много времени. На сегодняшний день 3D-структура Htt не исследована. Точнее, установлена только структура начального N-концевого фрагмента в 430 аминокислот (АМК), включающего повтор из 17 остатков глутамина [2]. Для решения изложенной задачи находят применения методы компьютерного моделирования. Суть их проста. В базе данных 3D-структур белков (RCSB PDB и др.) с помощью алгоритма BLAST находят белок-шаблон (template) с установленной физико-химическими методами 3D-структурой, чья АМК-последовательность (первичная структура) максимально совпадает с первичной структурой белка, 3D-структуру которого хотят смоделировать. В дальнейшем компьютер моделирует 3D-структуру интересующего исследователя белка (query). В случае Htt главной сложностью выступает уникально большая длина его полипептидной цепи, включающей 3142 АМК. Для такой длинной цепи невозможно найти белки-шаблоны. Поэтому, для решения проблемы нами предложен подход, заключающийся в моделировании 3D-структур отдельных участков полипептидной цепи Htt с объединением последних в единую молекулу в конечном итоге.

В ходе исследования использовались базы данных **UniProt** <http://www.uniprot.org/> и **NCBI Protein** <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein> для поиска первичной последовательности Htt в формате FASTA. Первичная последовательность была условно разбита на 11 участков по ~300 АМК (142 АМК в 11 участке) в каждом. Для каждого участка были проведены поиск белка-шаблона с известной третичной структурой по алгоритму **BLAST** и построение на основе шаблона 3D-модели на сервере **SWISS-MODEL** <https://swissmodel.expasy.org/>. Полученные 11 моделей были загружены в Chimera 1.11.2, где между ними осуществлено создание пептидных связей с образованием 3D-модели Htt. Результаты представлены в формате .pdb – файла, доступного для дальнейшего использования в любом программном обеспечении для биоинформатической работы с белками.

1. Nagai Y, Popiel A. // Current Pharmaceutical Design. 2008. V. 14. P. 3267-3279.

2. Kim MW, Chelliah Y, Kim SW, Otwinowski Z, Bezprozvany I. // Structure. 2009. V. 17. P. 1205-1212.

Системная блокировка TNF приводит к уменьшению метастазирования МСА 205 фибросаркомы *in vivo*

В.С. Гоголева^{1,2}, К.-С.Н. Атретханы^{1,2}, М.А. Носенко^{1,2}, С.А. Недоспасов^{1,2}, М.С. Друцкая^{1,2}

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

²Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

Электронная почта: violettegogoleva@mail.ru

Фактор некроза опухолей (ФНО, TNF) – цитокин с широким спектром действия, выполняющий важную роль в иммунной регуляции и воспалении. Роль TNF в развитии опухолей неоднозначна. С одной стороны, TNF был открыт благодаря своей противоопухолевой активности, однако существует много данных о том, что TNF способствует развитию опухолей. Одной из функций TNF в опухолевом микроокружении является поддержание метастазирования. При этом большинство случаев смерти онкологических больных связано именно с возникновением метастазов, а не первичной опухолью. Изучение роли TNF в метастазировании актуально не только с точки зрения понимания молекулярных механизмов метастатического каскада, но может также иметь клиническое значение.

Цель. Исследование влияния нейтрализации TNF на рост и метастазирование перевиваемой опухолевой линии МСА 205 фибросаркомы у мышей.

Работу проводили на гуманизированных по TNF мышам, которые получали инъекции блокаторов TNF инфликсимаба или этанерцепта, а контрольная группа – PBS. На 7-й день после начала применения блокаторов TNF мышам вводили опухолевые клетки МСА 205 фибросаркомы, далее измеряли объем опухолей каждые 3-5 дней. В конце эксперимента оценивали уровень экспрессии генов в опухоли методом количественной ПЦР в реальном времени, проводили иммуногистохимический анализ опухолевых образцов, а также изучали развитие миелоидных клеток *in vitro* на фоне нейтрализации TNF.

В ходе данной работы было обнаружено, что нейтрализация TNF приводит к замедлению опухолевого роста у самок, что коррелирует с уменьшением накопления миелоидных супрессорных клеток, обладающих проопухолевой активностью. Мы обнаружили, что при дифференцировке *in vitro* в присутствии блокаторов TNF моноцитарная популяция незрелых миелоидных клеток в большей степени подвержена клеточной гибели. Фармакологическая блокировка TNF у самцов не влияла на первичный рост опухоли, но на более позднем этапе предотвращала возникновение метастазов. Нейтрализация TNF приводила к снижению уровня экспрессии ангиогенных и супрессорных факторов, таких как *Hif1a*, *Vegfa*, *Fgf2*, *Icam1*, в опухолевых образцах. Иммуногистохимический анализ показал, что нейтрализация TNF может приводить к подавлению ангиогенеза в опухолях.

Таким образом, TNF необходим для роста перевиваемой опухолевой линии МСА 205 фибросаркомы *in vivo*. Кроме того, TNF способствует выживанию миелоидных клеток, а также играет важную роль в ангиогенезе и метастазировании.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 14-25-00160.

Регуляция биосинтеза бетаина в клеточных культурах и растениях *Panax ginseng* под действием внешних факторов и гетерологичной экспрессии гена *LiBANMT*

А.И. Дегтяренко, Ю.Н. Шкрыль

Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии, Владивосток
Электронная почта: acg3777@gmail.com

Цвиттерийные соединения бетаины – важнейшие факторы стрессоустойчивости растений, являются осмопротекторами и донорами метильных групп [1]. Чаще всего, растения накапливают глицинбетаин (GB). Единственный, описанный у растений путь синтеза GB – последовательное 3-х стадийное окисление холина ферментами холинмонооксидазой (СМО) и бетаинальдегиддегидрогеназой (BADH). Доступность холина – фактор, ограничивающий накопление GB. Свинчатковые (*Plumbaginaceae*) вместо окисления холина выработали механизм метилирования β -аланина с получением β -аланин бетаина (β AB) под действием фермента β -аланин-N-метилтрансферазы (BANMT) [2]. Несмотря на перспективность метаболической инженерии, направленной на увеличение накопления производных бетаина, эффект гетерологичной экспрессии гена *LiBANMT* остается не изучен.

Женьшень обыкновенный (*Panax ginseng*) – лекарственное растение, культивирование которого осложняется высокой чувствительностью к абиотическим стрессам [3]. Молекулярный механизм биосинтеза GB в женьшене в настоящее время остается слабоизученным. Наличие гена *PgBADH*, вероятно, указывает на то, что в женьшене реализуется традиционный для растений путь биосинтеза GB, опосредованный СМО/BADH. Нами впервые был выделен и секвенирован участок гена СМО женьшеня - *PgСМО*. Предсказанный белок *PgСМО* имеет высокую степень гомологии с холинмонооксидазами других растений – *Daucus carota* (83%) и *Spinacia oleracea* (80%). Изменение экспрессии генов *PgСМО* и *PgBADH* под действием абиотических внешних воздействий была изучена при помощи ПЦР в реальном времени.

Мы предположили, что уменьшение стрессовосприимчивости женьшеня может быть достигнуто путем генетической трансформации геном биосинтеза β AB. Для проверки данного предположения, ген *LiBANMT* был амплифицирован с кДНК Кемрека широколистного (*L. latifolium*) – аккумулятора β AB. Смысловая часть гена *LiBANMT* была помещена под контроль конститутивного промотора 35S_{CaMV} в составе бинарного вектор рPZP, содержащей селективный маркер *NPTII*, обеспечивающий устойчивость к канамицину.

Культура каллусной ткани и зелёные экспланты женьшеня были подвергнуты агробактериальной трансформации и последующей селекции. ПЦР-анализ с использованием кДНК трансформированных эксплантов показал наличие экспрессии целевого гена BANMT. Таким образом, в данной работе впервые были получены трансгенные каллусные культуры женьшеня, экспрессирующие ген биосинтеза β AB – *LiBANMT*.

1. Hayashi H., Alia, Mustardy L., Deshnum P., Ida M., Murata N. // Plant J. 1997. V. 12. P. 133-142.

2. Raman S., Rathinasabapathi B. // Plant Physiol. 2003. V. 123. P.1642–1651.

3. Niranjana H., Georgiev M.I., Kim Y.S., Jeong C.S., Kim S.J., Park S.Y., Paek K.Y. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2014. V. 98. P. 6243–6254.

Биопленкообразование *Listeria monocytogenes* с микроорганизмами, выделенными из пищеварительного тракта Мидии Грея (*Grenomytilus Grayanus*)

А.И. Еськова¹, Л.С. Бузолева²

¹НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова, Владивосток

²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

Электронная почта: alena-esy@mail.ru

Попадание патогенов в морскую среду представляет опасность для морской биоты, так, согласно литературным источникам, в природе морские мидии могут подвергаться воздействию различных типов патогенных бактерий, в частности, *L. monocytogenes* [1]. Привнесение листерий может быть связано с паводковыми и грунтовыми водами, с загрязнением вод канализационными стоками [2]. Зараженные *L. monocytogenes* двустворчатые моллюски регулярно являются причиной вспышек листериоза [1]. Но, морская среда не является благоприятной для существования патогенных бактерий, поэтому возможность образовывать биопленки является одним из механизмов адаптации листерий и способствует сохранению и поддержанию их численности в этих условиях.

Цель работы – изучить способность *Listeria monocytogenes* формировать биопленки с микроорганизмами, выделенными из пищеварительного тракта мидии Грея (*Grenomytilus grayanus*).

Материалы и методы. В работе использованы 11 штаммов *L. monocytogenes* из коллекции НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова. В качестве тест-культур выступали 10 штаммов, выделенных из желудочно-кишечного тракта мидии. Для определения таксономической принадлежности полученных микроорганизмов проводилось изучение их культуральных и физиолого-биохимических свойств с помощью классических микробиологических методов. При анализе биохимических свойств использовали стриповые диагностикумы «API» фирмы BioMerieux (Франция). Для определения сапротрофных штаммов до рода был использован определитель бактерий Берджи. Для изучения биопленкообразования использовали модифицированный метод Christensen G.D. et al. [3]. Культивировали микроорганизмы на среде СММ при комнатной температуре (22 °С) в течение 3 суток. Замеры оптической плотности проводили в течение трех суток инкубации в 96-луночных планшетах на планшетном ридере (LABSYSTEMS iEMS Reader MF, BioRad), при $\lambda=540$ нм.

Результаты и обсуждения. Была определена способность штаммов *L. monocytogenes* к биопленкообразованию в монокультуре и в ассоциации с бактериями из пищеварительного тракта мидии при температуре 22 °С. Всего проведено 110 вариантов опыта. На основании проведенных исследований к штаммам с высокими биопленкообразующими свойствами отнесен штамм МА-8 (как видно из таблицы 1, значение оптической плотности – 0,957), идентифицирован как представитель рода *Pseudomonas*. Таким образом, показано, что образование биопленки с морскими сапротрофными микроорганизмами, в частности с бактериями родов *Pseudomonas sp.* способствует сохранению и поддержанию численности *L. monocytogenes* в морской среде.

Таблица 1.

Биопленкообразующая способность *L. monocytogenes* в ассоциации с *Pseudomonas sp.*

Штамм	Показатели оптической плотности
<i>Pseudomonas</i> МА-8+ <i>L. monocytogenes</i> 11731/8-8297	0,957±0,002
Контроль (среда без бактерий)	0,07±0,001

1. Zhu Q., Gooneratne R., Hussain M.A. // Foods. 2017. V.6. P. 21.
2. Онищенко Г.Г. // Гигиена и санитария. 2003. Т. 31. С. 3-7.
3. Christensen G. D., Simpson W. A., Beachey E. H. // Bacterial adhesion. 1985. P. 279-305.

Взаимодействие кардиопротектора эхинохрома А и его аналога с альбумином

А.Е. Закирова, Г.Н. Лихацкая, Н.Ю. Ким, И.Г. Агафонова, В.Ф. Ануфриев
 Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
 Электронная почта: zakirova@piboc.dvo.ru

Целью настоящего исследования было изучение связывания 6-гидрокси-2,3-диглутатионил-7-этилнафтазарина (ДГЭ, 1) и эхинохрома А (ЭхА, 2) с альбумином - основным транспортным белком плазмы крови человека (ЧСА) методами флуоресцентной спектроскопии и компьютерного моделирования. Методом флуоресцентной спектроскопии изучена флуоресценция ЧСА ($\lambda_{ex}=290$ нм и $\lambda_{em}=300-450$ нм) на спектрофлуориметре Shimadzu RF-5301 (Япония) и показано, что соединения 1 и 2 вызывают тушение флуоресценции в молекуле альбумина. Значение констант тушения флуоресценции Штерна-Фольмера (K_{SV}) для ЭхА и ДГЭ при температуре 290 К одинаковое, составляет $9,5 \cdot 10^4$ M^{-1} и указывает на сильное взаимодействие соединений с альбумином. Обнаружено, что механизмы тушения флуоресценции ЧСА в присутствии ЭхА и ДГЭ различны. При температуре 310 К величины K_{SV} для ЭхА и ДГЭ составляют $6,4 \cdot 10^4$ M^{-1} и $9,6 \cdot 10^4$ M^{-1} соответственно. Для ЭхА уменьшение величины K_{SV} с увеличением температуры указывает на статический механизм тушения флуоресценции, в отличие от ДГЭ. Определены константы связывания (K) и количество сайтов связывания (n) соединений с ЧСА: $K^{ЭхА}=22,9 \cdot 10^4$ M^{-1} , $n_{ЭхА}=1,1$ и $K^{ДГЭ}=23,2 \cdot 10^6$ M^{-1} , $n_{ДГЭ}=1,7$. Для характеристики сайтов связывания соединений с альбумином проведены эксперименты по конкурированию с маркерами сайтов связывания I и II (варфарином и ибупрофеном). Величины K_{SV} для ЭхА в присутствии варфарина и ибупрофена уменьшаются. Наибольшее изменение величины K_{SV} для ЭхА наблюдается в присутствии варфарина, что позволяет сделать вывод о преимущественном связывании ЭхА в сайте I молекулы ЧСА. Величины K_{SV} для ДГЭ в присутствии маркеров не изменяются и это свидетельствует о том, что ДГЭ не связывается в сайтах I и II альбумина. Показано, что ЭхА конкурирует с варфарином за связывание с ЧСА в сайте I, а ДГЭ не конкурирует с варфарином и ибупрофеном в сайтах связывания I и II (Рис. 1)

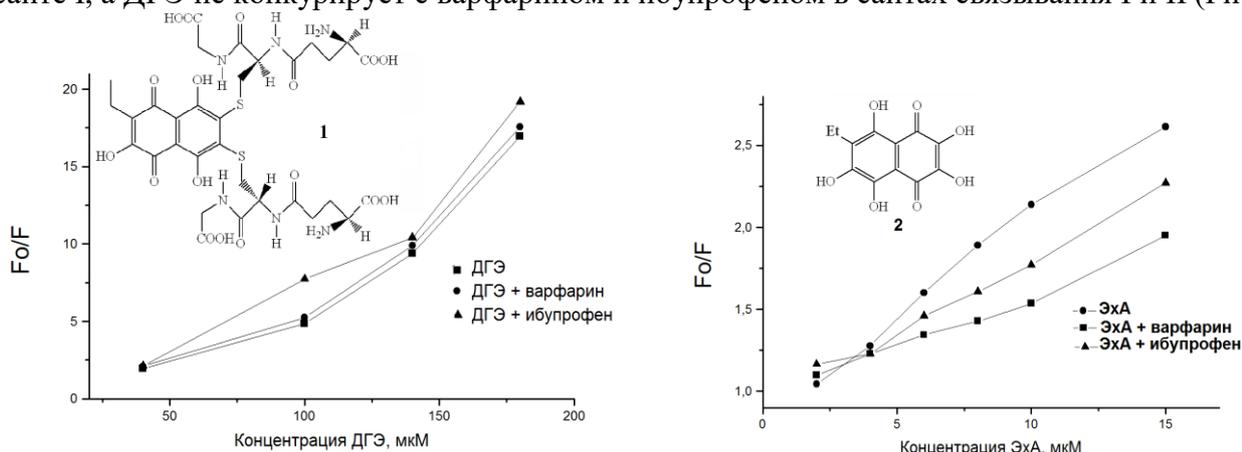


Рис. 1. Влияние маркеров сайтов связывания ЧСА (варфарина и ибупрофена) на тушение флуоресценции ЧСА в присутствии соединений ДГЭ (1) и ЭхА (2).

Расчеты термодинамических параметров связывания ЭхА и ДГЭ с ЧСА показали, что величина свободной энергии связывания отрицательная и составляет $-27,7$ кДж M^{-1} и $-177,65$ Дж M^{-1} для ЭхА и ДГЭ соответственно. Методами компьютерного моделирования и молекулярного докинга с помощью программы МОЕ2016.0802 (<http://www.chemcomp.com/>) построены теоретические модели соединений в воде и предсказаны структуры комплексов ЭхА и ДГЭ с ЧСА.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований Дальний Восток (грант № 15-1-5-006).

Разработка подходов для генетической идентификации морских губок из спиртовых и высушенных образцовА.П. Калиновский¹, К.В. Гузев², М.П. Исаева²¹Дальневосточный федеральный университет, Владивосток²Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, ВладивостокЭлектронная почта: alekck96@mail.ru

Дальневосточная морская губка *Monanchora pulchra* является богатым источником целого ряда биологически активных веществ, в частности пентациклических гуанидиновых алкалоидов: монанхоцидинов А и В, монанхомикалинов В и С, птиломикалина А, нормонанхоцидина D [1]. Данные соединения обладают широким спектром биологической активности, такой как способность индуцировать аутофагию, апоптоз, изменять проницаемость мембран и ингибировать рецепторы [2,3]. Определение видовой принадлежности образцов сырья чрезвычайно важно для точного соотнесения выделенных биологически активных соединений с источником их выделения. Использование генетических критериев оказывается наиболее точным для видовой идентификации сырья.

В рамках этой работы было проведено сравнительное выделение геномной ДНК из высушенных и заспиртованных губок с последующей амплификацией/реамплификацией гена 18S рРНК. Далее было выполнено клонирование полученных фрагментов в плазмидный вектор рAL (Евроген) с последующим секвенированием ПЦР фрагментов «положительных» колоний *E. coli*. Поиск гомологичных последовательностей 18S рРНК был проведен на сервере NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Отобранные последовательности были использованы для построения филогенетического дерева методом ближайших соседей (NJ), интегрированного в программный пакет MEGA v.7. На полученном дереве последовательности 18S рРНК *M. pulchra* группируются с последовательностями другого вида *M. arbuscular*, а также с *Crambe crambe*, что указывает на их близкое родство. Таким образом, показана возможность видовой идентификации губок из высушенных и заспиртованных губок с использованием приемов геномной инженерии.

1. Dyshlovoy, S.A.; Tabakmakher, K.M.; Hauschild, J.; Shchekaleva, R.K.; Otte, K.; Guzii, A.G.; Makarieva, T.N.; Kudryashova, E.K.; Fedorov, S.N.; Shubina, L.K.; Bokemeyer, C.; Honecker, F.; Stonik, V.A.; von Amsberg, G. // *Mar. Drugs*. 2016. V. 14. P. 133.

2. Dyshlovoy, S.A.; Hauschild, J.; Amann, K.; Tabakmakher, K.M.; Venz, S.; Walther, R.; Guzii, A.G.; Makarieva, T.N.; Shubina, L.K.; Fedorov, S.N.; et al. // *Oncotarget*. 2015. V. 6. P. 17328–17341.

3. Guzii, A.G.; Makarieva, T.N.; Korolkova, Y.V.; Andreev, Y.A.; Mosharova, I.V.; Tabakmaher, K.M.; Denisenko, V.A.; Dmitrenok, P.S.; Ogurtsova, E.K.; Antonov, A.S.; et al. // *Tetrahedron Lett*. 2013. V. 54. P. 1247–1250.

Новый IQ-пептид Кунитц-типа актинии *Heteractis magnifica*, проявляющий нейропротекторную активность в модели болезни Альцгеймера

А.Н. Кветкина, Е.А. Юрченко, Е.А. Пислягин, Е.В. Лейченко, М.П. Исаева, Э.П. Козловская
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
Электронная почта: sashaledy@gmail.com

Болезнь Альцгеймера относится к распространенным нейродегенеративным заболеваниям и является основной причиной деменции в пожилом и старческом возрасте. Это заболевание характеризуется гибелью нейронов, приводящей к различного рода неврологическим нарушениям, таким как потеря памяти и пространственная дезориентация [1]. В настоящее время препараты, способные полностью излечить или хотя бы приостановить прогрессирование заболевания, отсутствуют. Современная терапия направлена на ослабление неврологических симптомов с помощью низкомолекулярных антиоксидантов, ингибиторов ферментов, участвующих в образовании β -амилоида, фосфорилировании тау-белка и расщеплении ацетилхолина [2,3]. Поэтому поиск соединений, способных остановить гибель нейронов, является важной задачей науки и медицины.

В ходе структурно-функциональных исследований нами была получена серия рекомбинантных пептидов Кунитц-типа актиний рода *Heteractis*, среди которых гНМИQ3с1 тропической актинии *Heteractis magnifica* с молекулярной массой 6434 Да наряду с трипсинингибирующей активностью также показал цитопротекторную активность в *in vitro* модели болезни Альцгеймера, вызванной β -амилоидом. Этот пептид увеличивал жизнеспособность клеток на 39.4%. Работа поддержана грантом РФФИ (проект №14-25-00037).

1. Small G., Liston E., Jarvik L. // West. J Med. 1981. V. 135. P. 469-470.
2. Kreft A., Martone R., Porte A. // J Med. Chem. 2009. V. 52. P. 6169-6188.
3. Georgievskaja B., Sandin J., Doherty J., Mortberg A., Neelissen J., Andersson A., Gruber S., Nilsson Y., Schott P., Arvidsson P. I., Hellberg S., Osswald G., Berg S., Falting J., Bhat R.V. // J Neurochem. 2013. V. 125. P. 446-456.

Подавление активности сигнального пути wnt в клетках трижды отрицательного рака молочной железы различными фракциями экстракта виноградовника японского *Ampelopsis japonica*

А.М. Клименко¹, Д.В. Тарбеева², С.А. Федорев²

¹Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

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

Электронный адрес: klimenkotonya.vl@mail.ru

В России заболеваемость раком молочной железы за 2011 год составила 45,2 случая на 100 тысяч женщин, из которых триждыотрицательный рак молочной железы (ТО-РМЖ) занимает до 24%, при этом большинство случаев ТО-РМЖ связаны с избыточной активацией внутриклеточного сигнального пути Wnt. В связи с невозможностью адресной гормональной и анти-HER2 терапии при ТО-РМЖ поиск селективных блокаторов пути Wnt, в том числе из природных источников, является одной из самых актуальных задач в области фармакологических исследований, нацеленных на лечение онкопатологий данного типа [1,2]. В качестве примера растения, водно-спиртовой экстракт которого показал способность избирательно подавлять активность Wnt в клетках ТО-РМЖ, можно назвать дальневосточный эндемик виноградовник японский (*Ampelopsis japonica*). Экстракт был затем подвергнут фракционированию с последующей целью выделения активного вещества.

По результатам анализа влияния различных фракций экстракта виноградовника японского на Wnt-зависимую люминесценцию в репортерных клетках НТВ-19-ТОРFLASH, достоверную ингибирующую активность показали фракции: С (получена элюцией системой хлороформ-этанол 1:1), и Е (получена элюцией этанолом), в концентрации 100 нг сухого вещества фракции/мкл культуральной среды (Рис. 1). Активность Wnt-зависимой люциферазы в этих пробах являлась близкой к фоновой, что свидетельствует об эффективном угнетении активности Wnt-сигнального каскада. Полученные результаты позволяют предположить наличие в данных фракциях веществ – селективных ингибиторов Wnt-сигнального каскада.

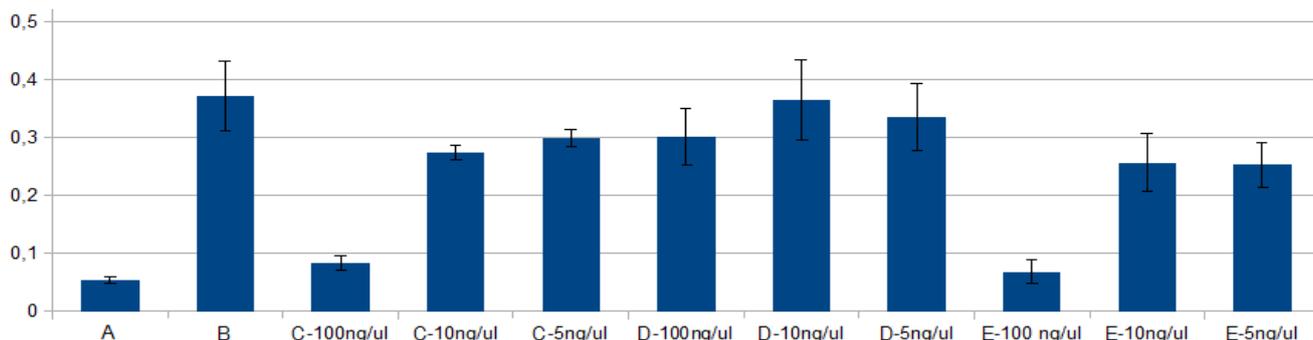


Рис. 1. Влияние на активность Wnt-каскада фракций экстракта виноградовника японского *Ampelopsis japonica*. По оси ординат: активность Wnt-зависимой люциферазы нормированная по активности Wnt-независимой люциферазы в относительных единицах, указано стандартное отклонение для трёх повторностей. По оси абсцисс: фракции *Ampelopsis japonica* в разных концентрациях: А — фоновая активность, В — активация люминесценции при добавлении белка Wnt3a, С — хлороформно-этанольная фракция (1:1), D — хлороформенная фракция, Е — этанольная фракция.

1. Татарский В.В. // Успехи молекулярной онкологии. 2016. Т.3. С. 28-31.

2. Тюляндин С.А., Стенина М.Б., Фролова М.А. // Практическая онкология. 2010. Т.4. С. 247-251.

***In vivo* изучение скорости биодegradации биомиметических тканеинженерных конструкций**

Д.С. Кузнецова¹, П.С. Тимашев^{2,4}, А.В. Королева^{2,3}, Б.Н. Чичков³, В.Н. Баграташвили⁴,
Е.В. Загайнова¹

¹Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава РФ, Нижний Новгород

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва

³Ганноверский лазерный центр, Ганновер, Германия

⁴ФНИЦ Кристаллография и фотоника РАН, Москва

Электронная почта: daria.s.kuznetsova@gmail.com

В настоящее время устранение костных дефектов связано с объединением ряда технологий, ключевые компоненты которых включают скаффолды и аутологичные клетки. Скорость биодegradации скаффолдов после их имплантации является одним из важнейших параметров, определяющих успех восстановления кости в месте дефекта. Существует большое количество работ, где данный параметр оценивается в экспериментах *in vitro*. Однако оценка скорости биодegradации *in vivo* представляет значительную проблему в связи с тем, что основные методы оценки основаны на изменении массы скаффолда в биологических средах и гистологическом анализе имплантатов. Таким образом, разработка методов *in vivo* оценки скорости биодegradации скаффолдов представляет собой важную задачу. Эксперимент включал две группы лабораторных животных - мышей. Первой группе имплантировали скаффолды с подсаженными клетками, вторая группа (контроль) состояла из мышей с имплантированными скаффолдами без клеток. В качестве клеточной культуры использовали мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК). Для оценки скорости биодegradации скаффолдов *in vivo* по уровню флуоресцентного сигнала методом оптического биоимиджинга разработана специальная методика. В качестве основных параметров оценивали площадь скаффолдов и уровень флуоресцентного сигнала. Показано, что через 1.5 месяца после имплантации уровень флуоресценции скаффолдов в обеих группах представлял около 60% от первоначального. Площадь скаффолдов так же уменьшилась в обеих группах, однако в группе с подсаженными ММСК наблюдались более значительные изменения. Внешне скаффолды теряли четкие границы, а флуоресцентный сигнал по всей поверхности становился более неоднородным. Через 3 месяца после имплантации уровень сигнала и площадь скаффолдов без ММСК практически не изменились по сравнению с этими же параметрами в 1.5 месяца. Внешне скаффолды выглядели так же неизменными. В группе с ММСК на третий месяц произошли значительные изменения. Уровень сигнала и площадь скаффолдов по сравнению со сроком в 1.5 месяца упали почти в три раза (18 и 21 % соответственно). Таким образом, разработана методика оценки скорости биодegradации скаффолдов *in vivo* по уровню флуоресцентного сигнала. Показано, что скорость биодegradации скаффолдов в три раза выше при наличии подсаженных клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 17-74-20077).

Новый способ активации вторичного метаболизма в растительных клетках за счет ингибирования экспрессии генов *JAZ* с помощью РНК интерференции

Д.С. Махазен, Ю.Н. Шкрыль, В.П. Булгаков

Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН,
Владивосток

Электронная почта: d.makhazen@gmail.com

Жасмоновая кислота, её производные (жасмонаты) и их действие на организм растения представляет собой объект внимания ученых уже несколько десятилетий. Жасмонаты регулируют множество внутриклеточных процессов, затрагивающих рост и развитие, но основная функция данного класса гормонов – вызвать ответную реакцию растения на атаку патогенов [1]. Основным регулятором данного сигнального пути является семейство белков – JAZ (Jasmonate ZIM-domain), образующее с белками TPL и NINJA репрессивный комплекс [2]. В отсутствие стресса имеющиеся ресурсы растения используются для роста и развития, JAZ-белки постоянно связывают транскрипционные факторы, репрессируя их функции. Список ТФ, способных ингибироваться JAZ белками, довольно разнообразен, но наиболее известный белок – MYC2. MYC2, взаимодействуя с ДНК, запускает экспрессию так называемых генов раннего ответа, тем самым запуская сигнальный каскад реакций, приводящий к замедлению роста и накоплению вторичных метаболитов [3].

Целью данной работы является создание генетических конструкций для экспрессии искусственных микроРНК (имиРНК), комплементарных к уникальным последовательностям генов *VvJAZ1* и *AtJAZ1e* клеточных культурах винограда и арабидопсиса. Мы предполагаем, что экспрессия имиРНК в клеточных культурах приведет к деградации матричных РНК генов *JAZ*, что, в свою очередь, активирует жасмонат-зависимый путь биосинтеза вторичных метаболитов.

In silico в программе P-SAMS [4] были разработаны имиРНК последовательности, комплементарные разным участкам генов арабидопсиса *AtJAZ1* (AT1G19180.2, TAIR) и винограда культурного *VvJAZ1* (GSVIVG01015042001, Genoscope). Выбранные нуклеотидные последовательности уникальны в геномах выбранных видов растений, таким образом, экспрессия данных имиРНК не должна интерферировать с любой другой матричной РНК. Создание имиРНК проводили на основе вектора pRS300 методом направленного мутагенеза [5]. Для этого в программе WMD3 (<http://wmd3.weigelworld.org>) были разработаны праймеры, содержащие последовательности имиРНК и необходимые сайты для клонирования. Процесс направленного мутагенеза в данном случае представляет собой проведение трех последовательных полимеразных цепных реакций (ПЦР) в результате которых проводится замена участков имиРНК арабидопсиса miR319a, содержащихся в векторе pRS300, на последовательности создаваемой нами имиРНК.

В результате проведенной работы с использованием технологии рекомбинантных ДНК, нами были получены экспрессионные конструкции, содержащие имиРНК, способные ингибировать целевые гены *JAZ1*. Данные генетические конструкции были перенесены в клетки винограда и арабидопсиса для проверки нашего предположения о способности ими *VvJAZ1* и ими *AtJAZ1* оказывать влияние на вторичный метаболизм растений. На данный момент клеточные культуры находятся на стадии селекции.

1. Katsir L., Chung H., Koo A., Howe G. // Curr Opin Plant Biol. 2008. V. 11. P. 428-35.

2. Pauwels L., Barbero G., Geerinck J., Tilleman S., Grunewald W., Pérez A., Chico J., Bossche R., Sewell J., Gil E., García-Casado G. // Nature. 2010. V. 464. P. 788-791.

3. Kazan K., Manners J. // Molecular plant. 2013. V. 6. P. 686-703.

4. Fahlgren N., Hill S., Carrington J., Carbonell A. // Bioinformatics. 2016. V. 32 P. 157-158.

5. Schwab R., Ossowski S., Riester M., Warthmann N., Weigel D. // Plant Cell. 2006. V. 18. P. 1121-1133.

Исследование Hsp70-индуцирующей активности структурных аналогов 2,3,7-трис(тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозил)-6-этил-5,8-дигидрокси-1,4-нафтохинона (U-133)

Е.М. Минько¹, С.Г. Полоник², Е.А. Юрченко²

¹Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

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

Электронный адрес: dminae@mail.ru

Несмотря на существенный прогресс в лечении злокачественных опухолей этот вопрос не теряет своей актуальности. Альтернативным решением этой проблемы является использование индукторов белка теплового шока Hsp70, который имеет ряд противоопухолевых свойств. Hsp70 с антигенными пептидами злокачественных опухолей образуют комплексы, которые, попадая во внутренние среды организма, могут быть захвачены антиген-презентирующими клетками и включены в механизм презентации антигенов. Также, Hsp70 способен к активации клеток натуральных киллеров, которая происходит благодаря выходу Hsp70 на поверхность опухолевых клеток.

Целью данной работы являлось исследование Hsp70-индуцирующей активности структурных аналогов 2,3,7-трис(тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозил)-6-этил-5,8-дигидрокси-1,4-нафтохинона (U-133) и их противоопухолевого эффекта *in vitro*.

Вещества U-127 и U-421в концентрации 5 μM усиливали экспрессию Hsp70 в клетках карциномы Эрлиха. В то же время, вещества U-443 и U-444 понижали уровень исследуемого белка.

В ряду моноглюкозилированных соединений увеличение длины углеродной цепи у заместителя при R2 приводило к уменьшению Hsp70-индуцирующей активности; при этом в ряду диглюкозилированных производных увеличение длины углеродной цепи у заместителя при R3 вызывало усиление Hsp70-индуцирующей активности (Рис.1).

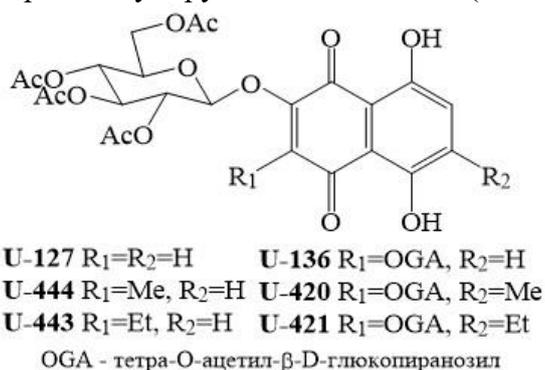


Рис. 1. Структура исследуемых веществ

После инкубирования клеток карциномы Эрлиха с веществом U-421 в культуральной среде были обнаружены белок-пептидные комплексы 73-75 кДа, а также сам белок теплового шока Hsp70.

Обработка клеток карциномы Эрлиха U-421 (1 μM, 2 ч) усиливала их чувствительность к цитотоксическому действию мышиных спленоцитов на 25%.

Таким образом, вещество U-421 повышает цитотоксическую активность спленоцитов в отношении клеток карциномы Эрлиха *in vitro* благодаря выходу Hsp70-пептидных комплексов из опухолевых клеток в культуральную среду и, вероятно, появлению белка Hsp70 на поверхности опухолевых клеток.

Влияние повторной генетической трансформации геном *2b* из вируса огуречной мозаики CMV на экспрессию трансгена в длительно культивируемой культуре амурского винограда *Vitis amurensis* Rupr.

Н.Н. Нитяговский, К.В. Киселев, А.П. Тюнин

Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН,
Владивосток

Электронная почта: niknit1996@gmail.com

Множество вторичных метаболитов растений, включая стильбены, являются ценными с фармакологической точки зрения, однако уровень их содержания в растениях зачастую мал. Стратегии, направленные на увеличение продукции вторичных метаболитов методом генетической трансформации, зачастую не дают ожидаемого эффекта из-за феномена «замолкания» генетической вставки. Экспериментально показано, что транскрипционное и посттранскрипционное «замолкание» генов, контроль транспозонов в составе генома напрямую регулируются через изменение статуса метилирования растительной ДНК [1,2].

Сотрудниками нашей лаборатории была получена культура клеток VB2 амурского винограда *Vitis amurensis* Rupr. путем переноса гена *rolB* из *Agrobacterium rhizogenes* в геном дикого винограда, что увеличило содержание стильбенов более чем в 100 раз. Дальнейшие наблюдения показали, что уровень содержания стильбенов снижался соизмеримо с уменьшением уровня экспрессии трансгена *rolB* с течением времени [3]. Дальнейшие исследования показали, что снижение общего уровня цитозинового метилирования в клетках VB2 приводило к частичной реактивации экспрессии трансгена *rolB* и повышению уровня содержания стильбенов [4]. Все это показывает, что метилирование ДНК является существенным препятствием в получении культур клеток растений суперпродуцентов биологически активных веществ – возможных альтернативных источников. В процессе коэволюции некоторые фитовирусы выработали защитные механизмы, направленные на подавление отдельных компонентов растительной системы эпигенетического «замолкания». Вирус огуречной мозаики (CMV), благодаря наличию белка 2b, способен направлено ингибировать процесс метилирования ДНК через блокирование действия ферментов пути биогенеза малых интерферирующих РНК [5]. Учитывая, что наиболее распространенные векторные системы, используемые для трансформации растительных клеток, содержат элементы вирусных векторов, механизмы, направленные на подавление экспрессии внесенной конструкции, во многом схожи с таковыми при борьбе с вирусной инфекцией.

Проведение повторной трансформации трансгенных клеток VB2 привело к получению трех повторно трансгенных линий: VB2-2b-1, VB2-2b-2 и VB2-2b-3. При помощи метода ВЭЖХ показано статистически достоверное увеличение уровня содержания стильбенов в полученных линиях в сравнении с исходными клетками VB2. Кроме того, нами была проведена серия молекулярно-генетических исследований, результаты которых указывают, что белок 2b из CMV может стать перспективным инструментом разработке стратегий для предотвращения распространенного эффекта «замолкания» трансгена под действием цитозинового метилирования ДНК. Помимо практического применения свойств 2b для реактивации экспрессии трансгена, использование возможности модификации путей биогенеза малых некодирующих РНК представляет большую фундаментальную значимость.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ: 17-04-01381.

1. Law J., Jacobsen S.E. // Nature. 2010. V. 11. P. 204-220.
2. Meyer P. // FEBS Lett. 2011. V. 28. P. 32-40.
3. Dubrovina A.S., Kiselev K.V. // Acta Physiol. Plant. 2012. V. 3. P. 1101–1106.
4. Tyunin A.P., Kiselev K.V., Zhuravlev Y.N. // Plant Cell Tissue Organ Culture. 2012. V. 111. P. 91-100.
5. Zhang X. et al. // Genes & development. 2006. V. 20. P. 3255-3268.

Стабильная серотонинергическая и переменная дофаминергическая нервная система: морфологическая основа для оптимальной стратегии расселения личинок морских ежей

А.Л. Обухова, Е.Г. Ивашкин, М.Ю. Хабарова, Е.Е. Воронежская
Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва
Электронная почта: allobukhova@gmail.com

Моноамин-зависимая регуляция плавания характерна для многих групп водных беспозвоночных, в том числе, для личинок морских ежей. Известно, что в зависимости от уровня моноаминов, меняется скорость биения локомоторных ресничек, что определяет распределение личинок в столбе воды, а также их горизонтальные перемещения. Таким образом, характер моноамин-зависимой локомоции непосредственно влияет на расселение личинок. Однако морфологическая основа этого процесса детально не исследовалась.

На личинках морского ежа *Paracentrotus lividus* на стадиях гастролы, призмы и плутеуса мы провели фармакологические эксперименты по модуляции уровня серотонина (5-НТ) и дофамина (ДА). Мы проанализировали распределение личинок в столбе воды (высота колонки — 1 м, диаметр — 4 см) под влиянием 5-НТ и ДА (10⁻⁷ М, 1 час). После эксперимента личинок собирали раздельно из верхней, средней и нижней части колонки и анализировали присутствие нейронов, содержащих 5-НТ и ДА, используя иммунохимическое маркирование 5-НТ и метод формальдегид-глутарового выявления катехоламинов (FaGlu) для визуализации ДА.

В норме, на стадиях гастролы и призмы все личинки концентрировались в верхней части водного столба, а на стадии плутеуса — распределялись по всей толще воды и могли опускаться на дно. Инкубация в 5-НТ приводила к концентрации у поверхности воды личинок всех стадий развития. Инкубация в ДА на стадиях гастролы и призмы вызывала опускание личинок в среднюю и нижнюю часть столба воды, а на стадии плутеуса, при инкубации в ДА, все личинки опускались на дно.

В норме, первые 5-НТ-клетки начинают появляться у личинок *P. lividus* на стадии призмы и, к стадии плутеуса они образуют апикальный орган, а первые ДА-клетки появляются только на стадии плутеуса. В то же время, у экспериментальных личинок, клетки, способные к захвату ДА, обнаруживаются у единичных особей уже на стадии гастролы, у большей части особей — на стадии призмы и выявляются практически у всех личинок на стадии плутеуса. Следует отметить, что число и распределение 5-НТ-клеток сходно у личинок одной стадии развития независимо от их положения внутри водного столба. Напротив, количество ДА-клеток и их отростков сильно варьирует у личинок одного и того же возраста, но собранных из верхней и нижней частей водного столба. Так, самую развитую ДА-систему имеют личинки, опустившиеся на дно колонки, а минимальное число ДА-клеток — личинки, плавающие у поверхности водного столба.

Полученные нами морфологические данные подтверждают нашу гипотезу о том, что гетерохронность появления ДА-клеток у личинок *P. lividus* связана с их постепенным вертикальным распределением в толще воды во время развития — чем лучше развита ДА-система, тем больше личинка тяготеет ко дну. Мы предполагаем, что обнаруженная морфологическая зависимость синхронного развития 5-НТ-системы совместно с гетерохронным развитием ДА-системы у личинок одного поколения является морфологической основой оптимального пространственного распределения личинок в толще воды в процессе развития.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 16-34-01381 и № 15-04-07573.

Лектин из гребешка *Patinopecten yessoensis*

Ю.С. Овчаренко¹, Т.О. Мизгина², И.В. Чикаловец^{1,2}, В.И. Молчанова², В.В. Куриленко²,
О.В. Черников²

¹Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

²Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
Электронный адрес: mscrazysmail@mail.ru

У беспозвоночных, таких как двустворчатые моллюски, отсутствие адаптивного иммунитета делает врожденный иммунитет еще более значительным, и лектинам – углевод-связывающим белкам – отводится важная роль в процессах распознавания и удаления чужеродных агентов. Лектины, с одной стороны, входя в структуру тканей животных, растений, микроорганизмов, принимают участие, как в регулировании их метаболизма, так и в защите от некоторых агентов внешней среды. С другой стороны, лектины, выделенные из живых объектов, могут стать ценными биохимическими реагентами, использование которых получает свое развитие в экспериментальной цитохимии, диагностике некоторых заболеваний и, наконец, в биотехнологических процессах выделения некоторых сложных углеводсодержащих веществ.

В последние годы проводятся интенсивные исследования по изучению биохимических и физиологических свойств лектинов из морских гидробионтов. Гребешок *Patinopecten yessoensis* является важным марикультурным объектом в странах юго-восточной Азии и на Дальнем Востоке России. Будучи фильтрующим моллюском, он контактирует с множеством патогенных микроорганизмов, присутствующих в морской воде, что может приводить к крупномасштабным вспышкам бактериальных заболеваний и массовой гибели гребешков.

Из экстракта мускула гребешка *P. yessoensis* был выделен и частично охарактеризован Gal/GalNAc-специфичный лектин (PYL). Установлено изменение уровня PYL в ответ на заражение моллюска бактерией *Vibrio proteolyticus*, изолированной из мест обитания гребешка и патогенной для морских беспозвоночных. Вместе с тем, методом твердофазного лектин-ферментного анализа показано, что PYL взаимодействует с бактериями, выделенными из мускула гребешка и предположительно относящимися к штаммам рода *Vibrio*. Изменение уровня лектина в ответ на заражение, а также связывание PYL с бактериями, полученными из его органов, указывает на то, что лектин не только играет важную роль во врожденном иммунитете гребешка, но и дает основание предполагать, что PYL может выступать биорегулятором в системах симбиоза с микроорганизмами и паразитами беспозвоночных.

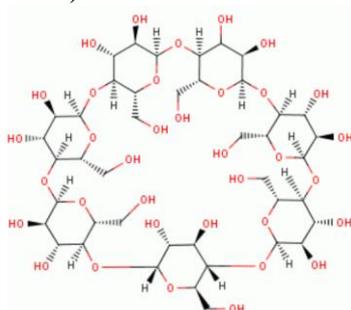
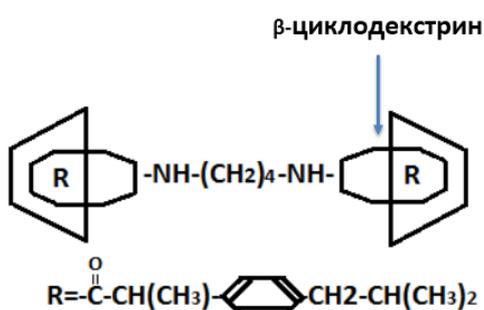
Противовоспалительная активность конъюгатов β -циклодекстринов с ибупрофеном

Е.В. Омелич

Амурская государственная медицинская академия МЗ России, Благовещенск

Электронная почта: le95ka@mail.ru

Циклодекстрины – регулярно построенные циклические олигосахариды, в которых фрагменты D-глюкопиранозы соединены 1,4-гликозидными связями находят применение в качестве молекулярных контейнеров лекарств, что позволяет осуществлять направленный транспорт лекарственного препарата к очагу поражения, увеличить его эффективность действия и уменьшить побочные эффекты. Нами проведено исследование противовоспалительных свойств двух конъюгатов циклодекстринов (X1 и X2) с нестероидным противовоспалительным препаратом ибупрофеном (RS)-2-(4-изобутилфенил)-пропионовая кислота).

 β -циклодекстринКонъюгат β -циклодекстрина с ибупрофеном (X2)
(R – ибупрофен)

При исследовании были задействованы 50 беспородных крыс-самцов со средней массой тела 240 г, разбитых на 4 группы – интактные, контрольные (воспаление), сравнения (воспаление + ибупрофен 40 мг/кг веса животного) и 2 экспериментальные (воспаление + X1 50 мг/кг веса и воспаление + X2 40 мг/кг веса). Острый воспалительный отек у крыс вызывали введением скипидара подкожно в область стопы, однократно в дозе 0,5 мл. Препараты вводили, начиная с третьего дня от начала эксперимента в течение 5 дней. Экспериментальной группе вводились вещества X1, X2, группе сравнения вводился ибупрофен. Для оценки степени отека ежедневно измеряли диаметр стопы и делали клинический анализ крови. На 8 сутки эксперимента животных выводили из эксперимента. В образцах крови определяли содержание глюкозы и общего белка на биохимическом анализаторе и провоспалительных цитокинов – интерлейкинов (ИЛ) 1 β , 4, 6, 8, 10, 18, ФНО- α , j-интерферона методом твердофазного ИФА. Гистохимическими методами (окраска гематоксилин-эозином) исследовали состояние дна желудка. Проверялся общий план строения органа и проводилась оценка наличия воспалительной инфильтрации стенки желудка.

Введение скипидара сопровождалось развитием воспалительной реакции, проявляющейся отеком лапы, умеренным лейкоцитозом, уменьшением глюкозы крови, увеличением содержания ИЛ-1 β и снижением содержания ИЛ-6 и j-интерферона. В группе сравнения и экспериментальных группах указанные изменения были выражены в меньшей степени, что свидетельствовало о противовоспалительном действии использованных препаратов. Конъюгаты ибупрофена с циклодекстринами (X1 и X2) превосходили по эффективности ибупрофен по местному действию, проявляющемуся более выраженным уменьшением отека лапы, но не отличались от последнего по изменениям биохимических показателей. Выявленное увеличение содержания глюкозы крови в экспериментальных группах скорее всего явилось следствием частичного распада циклодекстринов и высвобождением свободной глюкозы. Не выявлено каких-либо различий в строении стенки дна желудка в группе сравнения и экспериментальных группах при сравнении с интактной и контрольной группами животных. Следовательно, применение ибупрофена и его конъюгатов с циклодекстринами в указанных дозах не оказало повреждающего действия на стенку желудка.

Влияние абиотические факторы внешней среды, на биопленкообразование патогенных бактерий

А.Л. Пономарева¹, Л.С. Бузолева^{1,2}

¹НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова, Владивосток

²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

Электронная почта: giston@list.ru

Основной формой существования сообществ микроорганизмов как в теплокровном организме, так и в объектах окружающей среды, являются биопленки. В настоящий момент популярны работы, посвященные влиянию различных факторов среды на формирование биопленок, однако анализ совокупности воздействия различных факторов представлен крайне скудно [1-3].

Исходя из этого, целью данного сообщения стала оценка многофакторного воздействия разных условий среды (температура и соленость) на формирование биопленок *Salmonella enterica* и *Yersinia pseudotuberculosis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*.

В качестве объектов исследования были взяты 6 штаммов *Salmonella enterica* и 2 штамма *Yersinia pseudotuberculosis*, 7 штаммов *Listeria monocytogenes*, 5 штаммов *Staphylococcus aureus* из коллекции НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова. В качестве источника питания использовали глюкозу в концентрации 0,1, 0,5 и 1%. Наблюдения проводили в течение 3 суток. Для образования биопленок тестируемых микроорганизмов культивирование проводили в стандартных 96 луночных планшетах. Интенсивность формирования биопленок фиксировали с помощью метода G.D. Christensen с использованием красителя генциан виолет, измеряя оптическую плотность при λ 540 нм.

Выявлено, что оптимум интенсивности сочетания исследуемых факторов не совпадает с их отдельными оптимумами. Если один из факторов находится в наиболее благоприятном диапазоне для тестируемого микроорганизма, то он способен компенсировать неблагоприятное воздействия других факторов. Также в ходе эксперимента было показано, что биопленкообразование штаммов *Listeria monocytogenes* стимулировалась при низкой температуре и низкой солености. Бактерии вида *S. enterica* более склонны к образованию биопленок, чем бактерии вида *Y. pseudotuberculosis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*.

1. Aoudia N. et al. // Food Microbiology. 2016. V.53. P. 51-59.

2. Abdallah M. et al. // International Journal of Food Microbiology. 2015. V. 214. P. 38-47.

3. Yang Y. et al. // Food Microbiology. 2016. V. 54. P. 98-105.

Выделение фторхинолоновых антибиотиков из образцов крови методом жидкость – жидкостной экстракции

А.Б. Самбур, Л.И. Соколова, Е.М. Чудовская
Дальневосточный федеральный университет, Владивосток
Электронная почта: sambur_ab@mail.ru

Антибиотики класса фторхинолонов являются эффективными лекарственными средствами нового поколения, которые широко применяются в медицине, ветеринарии и сельском хозяйстве. Длительное применение или превышение определенного уровня содержания фторхинолонов в пищевой продукции может вызвать как привыкание к антибиотикам, так и аллергические реакции у потребителя. В связи с высокой востребованностью данной группы препаратов важной проблемой остается обеспечение высокого качества лекарственных средств. После прохождения курса лечения, при отсутствии положительного эффекта практически невозможно установить факт фальсификации препарата.

Выделение антибиотиков затруднено ввиду их низкого содержания в исследуемых объектах, сложного состава и большой вариабельности матрицы биологических образцов. Одним из приёмов выделения антибиотиков является жидкость-жидкостная экстракция.

Нами предложена методика выделения фторхинолонового антибиотика ципрофлоксацина из биообразцов (кровь) методом жидкостной экстракции ацетонитрилом. Исследована возможность и полнота извлечения антибиотика, с последующим измерением концентрации ципрофлоксацина методом дифференциальной спектроскопии в УФ-области. Влияние компонентов матрицы биологических образцов на степень извлечения антибиотика исследована методом УФ-ВЭЖХ при 275 нм.

Показано, что при использовании предложенной методики степень извлечения антибиотика составляет $66,00 \pm 8,00$ % и нижний предел обнаружения - 0,04 мг/мл. Значимое влияние матрицы на степень извлечения антибиотика наблюдается в области нижнего предела обнаружения.

Определены метрологические характеристики предложенной методики определения ципрофлоксацина в образцах крови. Методика не содержит систематической ошибки, показатель повторяемости не превышает 6%, значения стандартного отклонения не превышают 6,5 %, показатель внутрилабораторной прецизионности – ниже 7 %.

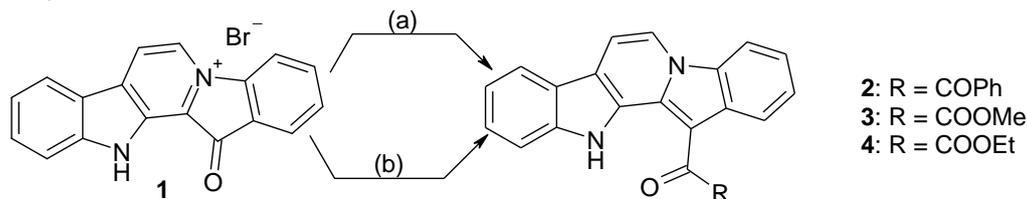
Применение алкалоида фаскаплизин и его производных для получения родственных природных соединений

М.А. Сидорова, М.Е. Жидков, И.А. Ляхова
 Дальневосточный федеральный университет, Владивосток
 Электронная почта: sidorova_ma@students.dvfu.ru

12H-Пиридо[1,2-а: 3,4-б']дииндольная гетероциклическая система образует каркас нескольких морских алкалоидов, таких как фаскаплизин, гомофаскаплизины А, В и С и их бромированные аналоги. Красный пигмент фаскаплизин (**1**), выделенный в 1988 году из губки *Fascaplysinopsis* sp., является их наиболее исследованным представителем. Это соединение обладает широким спектром биологической активности. Механизм его действия включает избирательное ингибирование фермента CDK-4, индукцию Р-гликопротеина совместно с ингибированием ацетилхолин эстеразы, также он является агонистом опиатных μ -рецепторов, по действию схожим с эндорфинами [1,2]. Эти факты демонстрируют огромный потенциал фаскаплизина и родственных соединений для терапевтических исследований.

Тщательное изучение фаскаплизина стало возможным благодаря его синтетической доступности [1]. В то же время другие представители алкалоидов, связанные с фаскаплизином, были изучены значительно меньше. В частности, синтезы гомофаскаплизинов В (**3**) и С были описаны в литературе, но большинство из них включало большое количество стадий или требовало труднодоступных исходных реагентов [3]. В данной работе мы исследовали одностадийное превращение фаскаплизина в гомофаскаплизины В и В-1.

В ходе работы было обнаружено, что при кипячении с обратным холодильником фаскаплизина в бензоилхлориде без участия катализаторов образуется новый продукт. Анализ спектральных данных полученного соединения позволил присвоить ему структуру **2** (рис.1). Выход в реакции составил 45%.



Реагенты и условия: (a): Ph-CO-Cl, Δ , 30 минут, (b): (CO-OMe)₂ или (CO-OEt)₂, автоклав, 200 °С, 30 минут

Рис. 1. Схема синтеза производных фаскаплизина

Структурное сходство соединения **2** с гомофаскаплизинами В и В-1 подтолкнуло нас к исследованию взаимодействия фаскаплизина с диметиловым и диэтиловым эфирами щавелевой кислоты в найденных условиях. Реакцию проводили в избытке соответствующих эфиров без растворителя в автоклаве при температуре 200 °С или под действием MW-излучения в течение 30 минут. В результате были получены гомофаскаплизины В и В-1 с выходом 20-25%. Спектральные характеристики полученных соединений **3** и **4** идентичны природным гомофаскаплизинам В и В-1.

Таким образом, выявлено необычное одностадийное превращение фаскаплизина в гомофаскаплизины **3** и **4**, что открывает возможность для синтеза из соединения **1** других представителей данного ряда природных соединений, в частности, 3-бромгомофаскаплизинов В и В-1.

1. Bharate S. B., Manda S., Mupparapu N., Battini N., Vishwakarma R. A. // Mini Rev Med Chem. 2012. V. 12. P. 650-664

2. Johnson T., et al. // ACS Chemical Neuroscience. 2016. V. 8. P. 473-485.

3. Gribble G. W., Pelcman B. // J. Org. Chem. 1992. V. 57. P. 3636-3642.

Изучение лектина из мидии *Mytilus trossulus*

А.П. Фильштейн, И.В. Чикаловец

Тихоокеанский институт биорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток
Электронная почта: alishichka@mail.ru

Лектины – белки, которые обратимо и избирательно связываются с моно- и олигосахаридами, но не являются продуктами иммунной системы. В настоящее время лектины широко используются в различных областях биологических и медицинских исследований, в частности, для решения проблем в области гликобиологии. Нативные лектины, многие из которых коммерчески доступны, в основном используются в реакциях преципитации и агглютинации или митогенной стимуляции лимфоцитов; производные лектинов используются для других целей. Например, лектины, модифицированные флуоресцентной меткой, частичками золота или ферментами, используются как гистохимические и цитохимические реагенты для обнаружения гликоконъюгатов в тканях, на клетках и внутриклеточных органеллах, и исследования внутриклеточных путей гликозилирования белков.

Ранее в лаборатории химии неинфекционного иммунитета ТИБОХ ДВО РАН был выделен и частично охарактеризован Gal/GalNAc-специфичный лектин (MTL) из мидии *Mytilus trossulus*. Установлена его аминокислотная последовательность и показано, что MTL является представителем нового класса лектинов, к которому относится лектин (CGL) из мидии *Crenomytilus grayanus*, а также еще один лектин, выделенный японскими исследователями из мидии *Mytilus galloprovincialis* (MytiLec). Расчет элементов вторичной структуры лектина по программе CDPPro (CONTIN/LL) показал, что характерным признаком структурной организации MTL является преобладание β -структуры (39,9% антипараллельных складчатых β -слоев, 21,5% β -изгибов). Предсказание пространственной структуры с помощью программ RHYRE2 показало, что MTL имеет тип укладки, называемый « β -трилистник». Такая структура, благодаря наличию внутренней симметрии, может приводить к образованию олигомеров.

Известно, что некоторые лектины образуют димеры и олигомеры за счет гидрофобного взаимодействия коллагеноподобных доменов молекул, с высоким содержанием пролина, глицина и тирозина. Нами было установлено, что олигомеризация MTL происходит в результате его самоассоциации за счет коллагеноподобного домена. Методами SDS-электрофореза и динамического рассеяния света показано, что при хранении лектина и увеличении его концентрации в растворе он образует высокомолекулярные агрегаты.

Изучение биологической активности лектина показало, что MTL обладает антибактериальной и фунгицидной активностями. Таким образом лектин является компонентом иммунной системы мидии и участвуют в защите организма беспозвоночного от воздействия внешних патогенов. Для подтверждения того, что лектин является частью иммунной системы моллюска, и участвует в защитных реакциях мидии, нами было исследовано влияние MTL на продукцию провоспалительных (INF- γ , TNF- α , IL-6) и противовоспалительного (IL-10) цитокинов клетками цельной крови человека. Показано, что при высокой концентрации лектина, он стимулирует синтез всех исследованных цитокинов. Добавление специфичного моносахарида Gal ингибирует стимуляцию синтеза TNF- α и INF- γ на 24,8% и 30% соответственно, что свидетельствует о взаимодействии лектина с клетками крови через углевод-связывающий сайт. Стимуляция IL-10 происходит при участии коллагеноподобного домена лектина, так как добавление коллагена приводит к ингибированию продукции цитокина на 82,5%. Синтез IL-6 уменьшается при добавлении как Gal, так и коллагена, таким образом, при взаимодействии лектина с клетками крови участвуют как углевод-связывающий сайт, так и коллагеноподобный домен.

Таким образом, показано, что лектин выполняет защитные функции в организме моллюска, стимулируя выработку цитокинов, которые, как известно, являются частью врожденного иммунитета.

Медиаторные механизмы и адаптационное значение циклических изменений в темпах развития и реализации поведенческих программ у пресноводных моллюсков

М.Ю. Хабарова, Е.Е. Воронежская
Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва
Электронная почта: m.khabarova@yandex.ru

Циклические изменения в физиологии и поведении организма отражают суточную, сезонную и многолетнюю периодичность, позволяя оптимально адаптироваться к внешним условиям. Такие адаптации обеспечиваются комплексом факторов, от сезонных изменений в экспрессии определенных генов до активности нейроэндокринной системы. Могут ли циклические адаптации поддерживаться колебанием уровня конкретных медиаторов и изменением в экспрессии и активности их рецепторов?

Ранее нами было показано, что у пресноводных моллюсков существует адаптационный механизм химической коммуникации «взрослый-зародыш». Химический фактор, выделяемый взрослыми особями, активирует сенсорные нейроны личинки, а выделяемые ими моноамины модулируют темпы развития и моторную активность зародыша [1]. Используя те же модельные объекты: большого прудовика *Lymnaea stagnalis* и аквариумную катушку *Helisoma trivolvis*, мы исследовали взаимосвязь активности моноаминергической системы и проявление циклических изменений в программах развития и поведения за пять лет наблюдения и анализа лабораторной культуры этих видов брюхоногих моллюсков.

Было обнаружено, что целый ряд физиологических параметров и поведенческих программ, связанных между собой и обеспечивающих комплексную адаптацию на всех этапах жизненного цикла вида, имеет сезонную и околосезонную выраженность даже при многолетнем содержании животных в постоянных условиях. Так, уровень яйценоскости максимален в весенне-летний период и в фазу растущей луны до полнолуния, как и копулятивная активность особей, что коррелирует с повышенным уровнем серотонина в женской части репродуктивной системы этих видов гермафродитов. В мужском отделе половой системы сезонных колебаний моноаминов не наблюдалось. Темпы роста личинок и ювенильных особей имеют выраженную сезонную динамику: в весенне-летний период прохождение метаморфоза и последующий рост до достижения половозрелости проходит в 1,5-2 раза быстрее, чем в осенне-зимний период. Ресничное вращение зародышей в яйце и наземная локомоция ювенильных особей более чем в два раза выше в летний период. Соответственно, в весенне-летний период, достижение половозрелости и установление ритмического характера яйценоскости наступает на 20-25% быстрее, чем в осенне-зимний период. Высокие темпы развития и локомоции коррелируют с повышенным уровнем серотонина у вылупившейся молодежи.

Химический фактор, выделяемый взрослыми особями, вызывал торможение развития зародышей претаморфных стадий, минимальное весной и максимально выраженное летом, тогда как прохождение метаморфоза ускорялось под влиянием химического фактора исключительно весной. Эффект замедления развития связан с активностью рецептора серотонина 5-HT₄, тогда как ускорение связано с активностью рецептора 5-HT₁ [2]. Суммарная активность этих рецепторов серотонина и определяет направленность действия химического фактора. На фоне преобладающей активности 5-HT₄ летом реализуется значительное торможение претаморфных стадий развития. Тогда как снижение уровня экспрессии 5-HT₄ и активизации 5-HT₁ позволяет реализоваться эффекту ускорения метаморфоза весной.

Работа выполнена в рамках темы государственного задания № 0108-2016-0003, при поддержке грантов РФФИ №15-04-07573 (физиологические и поведенческие исследования) и РФФИ №17-14-01353 (сезонная экспрессия рецепторов).

1. Voronezhskaya, E. E., Khabarova M. Yu., Nezlin L. P. // Development. 2004. V. 131. P. 3671–3680.

2. Glebov K.I., Voronezhskaya E.E., Khabarova M.Y., Ivashkin E.G., Nezlin L.P. and Ponimaskin E.G.// BMC Dev. Biol. 2014. V. 14. P. 14.

Синтез и противоопухолевая активность S-углеводных конъюгатов 1,4-нафтохинонов негликозидной природы

Е.А. Хмелевская¹, Ю.Е. Сабудский², С.А. Дышловой^{1,2}, Д.Н. Пелагеев^{1,2}

¹Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

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

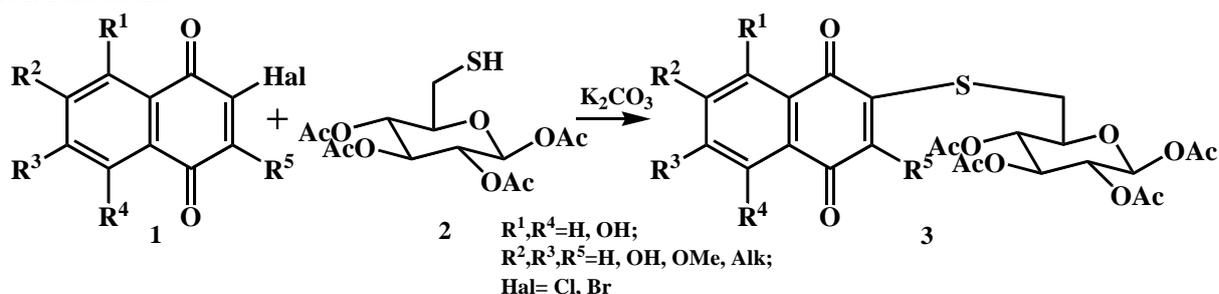
Электронная почта: khea-96@mail.ru

В последнее время идея конъюгировать молекулы противоопухолевых препаратов с молекулами углеводов для повышения их селективности по отношению к опухолевым клеткам привлекает всё больше внимания. Эта идея основана на так называемом эффекте Варбурга. Этот эффект описывает и объясняет способность опухолевых клеток и тканей потреблять большее количество глюкозы по сравнению с нормальными неопухолевыми клетками [1].

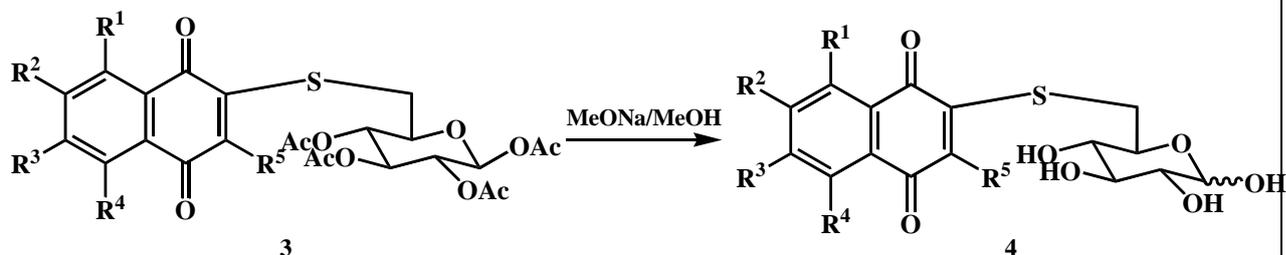
Моносахаридные конъюгаты противоопухолевых препаратов являются наиболее подходящими производными для разработки препаратов, процессом-мишенью которых является эффект Варбурга, т.к. обладают высокой водорастворимостью и стабильностью в сыворотке крови человека [2].

Ранее было показано, что производные нафтохинонов обладают широким спектром биологической активности. Так, например, для лечения некоторых видов опухолевых заболеваний, используются доксорубин, митоминин, митоксантрон и другие соединения, содержащие в своей структуре хиноидные фрагменты [3].

Для получения целевых соединений была использована реакция замещения атомов галогена в галогенированных производных нафтохинона 1 на атом серы под действием 1,2,3,4-тетраацетил-6-меркаптоглюкозы 2. В результате данной реакции с хорошими выходами (70-90%) были получены продукты 3, в которых один или более атомов галогена замещены на остаток глюкозы.



Полученные на первой стадии конъюгаты 3, дезацетилировали под действием метилата натрия в метаноле.



Для полученных хинон-углеводных конъюгатов 3,4 была изучена цитотоксическая активность по отношению к нормальным и опухолевым клеткам человека. Некоторые из этих соединений проявили повышенную активность по отношению к опухолевым клеткам по сравнению с нормальными.

1. Warburg O. // Science. 1956. V. 123. P. 309-314.

2. Calvaresi E.C., Hergenrother P.J. // Chemical Science. 2013. V. 4. P. 2319-2333.

3. Verma R.P. // Anticancer Agents in Medicinal Chemistry. 2006. V. 6. P. 489-499.

Введение папоротника *Matteuccia struthiopteris* (L.) Tod. в культуру *in vitro*: выбор условий дезинфекции спор

Л.А. Шелихан

Амурский филиал Ботанического сада-института ДВО РАН, Благовещенск

Электронная почта: solecito91@mail.ru

Папоротники являются сосудистыми споровыми растениями, чьё экологическое и хозяйственное значение зачастую недооценивается. Для преумножения численности этих растений и устранения воздействия на них патогенных микроорганизмов и болезней существует техника размножения растений в условиях *in vitro*, представляющая собой наиболее эффективный способ получения большого количества посадочного материала в стерильных условиях. При этом работа может осуществляться в течение всего года [1].

Цель представленной работы состояла в отработке первого этапа введения папоротников в культуру *in vitro* – поверхностной дезинфекции спор, собранных в природных популяциях, на примере съедобного папоротника *Matteuccia struthiopteris* (L.) Tod.

Поверхностная дезинфекция спор включает подбор дезинфицирующего агента и времени экспозиции, обеспечивающих эффективную дезинфекцию спор при сохранении их жизнеспособности. По литературным данным для дезинфекции спор обычно используют гипохлорит натрия (NaClO) или коммерческие отбеливающие средства на его основе [2], перекись водорода (H₂O₂) [3], соли ртути (например, HgCl₂) [4], этиловый спирт [5]. Для проращивания спор используют питательные среды Мурасиге-Скуга (МС) или ее половинный состав (1/2 МС) с добавлением 2% сахарозы и 0,7-0,8 % агара, рН 5,7-5,8 [2, 5].

Нами было испытано несколько дезинфицирующих агентов с разным временем экспозиции: а) 0,2% HgCl₂ + Тритон Х-100 (1–5 мин); б) отбеливатель «Белизна» (NaClO) - вода (1:1, 1:2, 1:3 об./об., 10 мин); в) 70% этиловый спирт (5 мин); г) 2% H₂O₂ (10, 20 и 30 мин); д) двухэтапная дезинфекция – 70% этиловый спирт (1 мин), затем 0,02% AgNO₃ (5–20 мин); е) двухэтапная дезинфекция – 70% этиловый спирт (0,3–3 мин), затем отбеливатель «Белизна» - вода (1:2, об./об. 10 мин); ё) двухэтапная дезинфекция – 70% этиловый спирт (1–3 мин), затем отбеливатель «Белизна» - вода (1:1, об./об. 5, 10 мин); ж) сульфохлорантин 1% и 2% (2,5–20 мин). После обработки споры промывали стерильной водой 4 раза и высевали в чашки Петри на питательную среду 1/2 МС с 2% сахарозы и 0,8% агара, рН 5,7. Проращивали споры при фотопериоде 16/8 ч. Гаметофиты были получены в двух вариантах: 1) 70% этиловый спирт (3 мин) и отбеливатель «Белизна» - вода (1:2, об./об., 10 мин); 2) 2% сульфохлорантин (2,5 мин), хотя в 1-м случае наблюдали развитие розовых колоний микроорганизмов, не влияющих на жизнеспособность гаметофитов.

Оценив полученные результаты, можно сделать следующие выводы: 1) соли ртути являются токсичными даже при коротком времени экспозиции для спор папоротника *M. struthiopteris*; 2) препараты на основе гипохлорита натрия малоэффективны для дезинфекции спор; 3) 70% этиловый спирт не удаляет сопутствующие нейтральные микроорганизмы (розовые колонии, не мешающие развитию гаметофитов); 4) наиболее оптимальным и подходящим дезинфицирующим агентом для спор папоротника является 2% сульфохлорантин (2,5 мин.), поскольку эффективно устраняет поверхностную микрофлору, сохраняя жизнеспособность спор.

1. Бутенко Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М.: ФБК-ПРЕСС. 1999. С. 160.

2. Menendez V., Abul Y., Bohanec B., Lafont F., Fernandez H. // Acta Physiol Plant. 2011. V. 33. P. 2493–2500.

3. Makowski D., Tomiczak K., Rybczynski J. J., Mikuła A. // Acta Physiol Plant. 2016. V. 38. P.12.

4. Marimuthu J., Manickam V. S. // Journal of Threatened Taxa. 2011. V. 3. P. 1919-1928.

5. Mikuła A., Pozoga M., Tomiczak K., Rybczynski J. J. // Plant Cell Rep. 2015. V. 34. P. 783-794.

Антибактериальный эффект наночастиц серебра в культурах клеток растений

Ю.А. Югай¹, Т.В. Авраменко², Ю.Н. Шкрыль^{1,2}

¹Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

²Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток

Электронный адрес: yuua1992@mail.ru

Одним из основных условий, определяющих успех работы с клеточными культурами растений, является отсутствие контаминации на всех этапах культивирования. Для обеспечения стерильности осуществляют ряд мер, в том числе, автоклавирование питательных сред, дезинфекцию используемого растительного материала, стерилизацию рабочих инструментов, а также организацию специальных стерильных зон для пересадок. Однако, несмотря на соблюдение стерильных условий при работе с клеточными культурами, избежать бактериальных заражений не удается, что приводит к гибели культуры.

Наиболее распространенным способом элиминации возникающих бактериальных инфекций при культивировании клеток растений является внесение антибиотиков в питательные среды. Безусловным преимуществом антибиотиков является их широкий спектр действия на различные возбудители бактериальных инфекций. Однако они имеют ряд недостатков, в частности, у многих представителей бактериальной микрофлоры появились механизмы, способные обеспечивать устойчивость к антибиотикам. Более того, длительное применение антибиотиков приводит к возникновению микоплазм в клеточных культурах. К числу отрицательных эффектов антибиотиков можно отнести их цитотоксичность в отношении культивируемых клеток, что негативно сказывается на параметрах прироста биомассы, либо вызывает гибель культуры. Низкая химическая устойчивость антибиотиков к факторам окружающей среды в процессе культивирования также является одним из ограничивающих факторов их использования.

В качестве антибактериальных агентов, лишенных этих недостатков, могут быть использованы наночастицы серебра. Антибактериальный эффект наночастиц обусловлен их способностью к последовательному повреждению клеточной стенки и проникновению внутрь бактерии, что приводит к запуску процессов дефосфорилирования белков, необходимых для обеспечения жизнедеятельности и размножения, в результате чего происходит гибель бактерии.

Нами был изучен антибактериальный эффект наночастиц серебра в суспензионных культурах марены сердцелистной *Rubiacordifolia*, винограда амурского *Vitis amurensis* и женьшеня настоящего *Panax ginseng*, зараженных *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* *Agrobacterium rhizogines*. Суспензионные культуры инкубировали с бактериями и наночастицами в различных концентрациях в течение 14 суток. Мы показали, что в отсутствие наночастиц бактериальная инфекция вызывала гибель клеток, тогда как в культурах, инкубированных с наночастицами, наблюдали частичную и полную элиминацию бактериальной инфекции.

С целью исследования стабильности антибактериального эффекта клетки суспензионных культур были пересажены на твердые агаризованные среды. В течение пассажа культуры, инкубированные наночастицами серебра, внешне не отличались от контрольных, также отсутствовали признаки контаминации. Более того, было установлено, что наночастицы серебра не влияют на индекс роста биомассы, что свидетельствует об отсутствии цитотоксического эффекта.

Таким образом, нам удалось показать, что наночастицы серебра являются сильным бактерицидным агентом в отношении *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Agrobacterium rhizogines*. Также нами установлено, что обнаруженный антибактериальный эффект характеризуется пролонгированным действием и отсутствием токсичности в отношении клеточных культур.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Авраменко Т.В.	70	Каретин Ю.А.	32
Агафонова И.Г.	52	Касимова А.А.	33
Адамейко И.	13	Кауцка М.	13
Анастюк С.Д.	27	Кветкина А.Н.	54
Ануфриев В.Ф.	52	Ким Н.Ю.	52
Арбатский Н.П.	33	Киселев К.В.	59
Атретханы К.-С.Н.	49	Клименко А.М.	55
Баграташвили В.Н.	56	Книрель Ю.А.	33
Белик А.А.	26	Козловская Э.П.	54
Белокозова К.В.	27	Кокоулин М.С.	34, 39
Белоус О.С.	23	Командрова Н.А.	34, 39
Бичахчян К.И.	45	Королева А.В.	56
Богданова Е.С.	38	Кравченко А. О.	32
Бондаренко В.В.	46	Кузнецова Д.С.	56
Борзых О.Г.	47	Кузьмич А.С.	39, 42
Борисова К.С.	37	Куриленко В.В.	61
Бородин Е.А.	15	Кыдралиева К.А.	43
Бородин П.Е.	48	Лейченко Е.В.	54
Бузолева Л.С.	51, 63	Ли В.	18
Булгаков В.П.	57	Лихацкая Г.Н.	52
Васильев Я.А.	48	Лукьянов П.А.	18
Володько А.В.	28	Ляхова И.А.	65
Воронежская Е.Е.	15, 60, 67	Макарьева Т.Н.	42
Гарипова В.А.	28	Махазен Д.С.	57
Гирич А.С.	28	Мизгина Т.О.	35, 61
Гоголева В.С.	48	Миличко В.А.	36
Гузев К.В.	52	Минько Е.М.	58
Дегтяренко А.И.	49	Мищенко Н.П.	28
Долматов И.Ю.	28	Молчанова В.И.	35, 61
Дроздов А.Л.	16	Морозова Т.В.	47
Друцкая М.С.	48	Недоспасов С.А.	19, 49
Дышловой С.А.	30, 36, 67	Некрасов Э.В.	20
Дячук В.А.	30	Нестеров В.Н.	38
Елькин Ю.Н.	34	Нитяговский Н.Н.	59
Ермак И.М.	28, 31	Носенко М.А.	49
Ермакова С.П.	41	Обухова А.Л.	60
Еськова А.И.	51	Овчаренко Ю.С.	61
Жидков М.Е.	65	Одинцова Н.А.	21
Загайнова Е.В.	56	Омелич Е.В.	62
Закирова А.Е.	52	Орлова Т.Ю.	47
Звягинцева Т.Н.	26	Пацаева С.В.	43
Зинов А.А.	47	Пелагеев Д.Н.	37, 68
Иванец Е.В.	31	Пислягин Е.А.	54
Иванникова С.И.	41	Полоник С.Г.	58
Иванов А.С.	17	Пономарева А.Л.	63
Ивашкин Е.Г.	60	Попов Р.С.	42
Исаева М.П.	53, 54	Попова А.В.	33
Калиновский А.П.	53	Похило Н.Д.	37
Калитник А.А.	32	Розенцвет О.А.	38

Романенко Л.А.	34, 39
Рубцов Е.С.	39
Сабуцкий Ю.Е.	68
Самбур А.Б.	64
Светашев В.И.	22
Сидорова М.А.	65
Смирнова М.Г.	40
Соколова Е.В.	34
Соколова Л.И.	40,64
Солдатов Р.	13
Суриц В.В.	41
Табакмахер К.М.	42
Тарбеева Д.В.	55
Терехова В.А.	43
Тимашев П.С.	56
Титлянов Э.А.	23
Титлянова Т.В.	23
Тюнин А.П.	59
У С.	18
Усов А.И.	24
Усольцева Р.В.	27, 41
Федореев С.А.	55
Федосеева Е.В.	43
Фильштейн А.П.	66
Хабарова М.Ю.	15, 60, 67
Харченко П.	13
Хмелевская Е.А.	68
Черников О.В.	35, 61
Чернов Т.А.	15
Чикаловец И.В.	35, 61, 66
Чичинская Э.И.	32
Чичков Б.Н.	56
Чудовская Е.М.	64
Шапкин Н.П.	40
Шашков А.С.	33
Шевченко Н.М.	41
Шелихан Л.А.	69
Шкрыль Ю.Н.	50, 57, 70
Шнайдер М.М.	33
Югай Ю.А.	70
Юрченко А.Н.	31
Юрченко Е.А.	54, 58
Якименко О.С.	43

Актуальные проблемы химии и биологии: Материалы конференции / XVI
Всероссийская молодёжная школа-конференция памяти В.Е. Васьковского.
Владивосток МЭС ТИБОХ, 4-9 сентября 2017. Владивосток: ДВО РАН, 2017. – 73 с.

В сборнике представлены тезисы устных и стендовых докладов студентов, аспирантов и молодых ученых, участников XVI Всероссийской молодёжной школы-конференции. В рефератах отражены результаты научных работ по приоритетным направлениям химии, биологии, прикладной биологии и медицины. Материалы представляют интерес для студентов, аспирантов, научных сотрудников и специалистов в области химии и биологии.

Вёрстка: к.х.н. Володько А.В.