

КРАТКИЙ ОТЧЕТ О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ИЗУЧЕНИЯ И СОХРАНЕНИЯ ГЛУБОКОВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ В ПОТЕНЦИАЛЬНО РУДОНОСНЫХ РАЙОНАХ СЕВЕРО-ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ТИХОГО ОКЕАНА (второй этап, 2021 г.)

Глубоководные экосистемы северо-западной части Тихого океана имеют огромный природно-ресурсный потенциал и значение для функционирования Мирового океана и биосферы в целом. Истощение ресурсов суши и прибрежных акваторий, а также развитие технологий, способствовали значительному увеличению интереса к морским ресурсам за пределами шельфа. Это, в свою очередь, определило и основные угрозы океаническому глубоководью: разрушение местообитаний в результате тралений; изменение состава и структуры сообществ в результате вылова; деградация местообитаний под воздействием геологоразведочных работ и добычи полезных ископаемых; изменение условий обитания в связи с загрязнением Мирового океана, процессами acidification и эвтрофикации, изменениями климата. В последние десятилетия как отдельными государствами, так и в рамках международных проектов предпринимаются конкретные действия по охране и управлению состоянием глубоководных экосистем. Членами консорциума на протяжении многих десятилетий ведутся работы по изучению глубоководных экосистем Мирового океана, анализу имеющихся здесь ресурсов, разработке методов исследования, подготовке рекомендаций по рациональному природопользованию и управлению морскими экосистемами. С 2021 года эти работы консолидированы в рамках реализации проекта «Фундаментальные проблемы изучения и сохранения глубоководных экосистем в потенциально рудоносных районах Северо- Западной части Тихого океана». Объединение усилий специалистов консорциума позволило добиться интенсификации исследований, возможности комплексного описания глубоководных экосистем, значимого синергетического эффекта, выражающегося в разработке новых методов и подходов в исследовании Мирового океана, появлению передовых работ в области биохимии, геохимии, фармакологии и др. На втором этапе (2021 г.) в рамках реализации проекта было проведено две комплексные глубоководные экспедиции на НИС «Академик М.А. Лаврентьев» (рейсы №93 и №94) для изучения глубоководных экосистем Гамовского каньона (Японское море), холодных высачиваний на Корякском склоне (Берингово море) и гайотов Императорского хребта. Лабораторные работы по проекту велись по 6 основным направлениям: описание донных ландшафтов и биологического разнообразия; биогеохимические исследования; молекулярно-биологические и цитологические

исследования; биохимические исследования; генетические исследования; фармакологические исследования. В рамках указанных направлений были поставлены следующие основные задачи:

1. Выполнить зонирование сообществ подводного вулкана Пийпа (массив Вулканологов, Берингово море), гайотов Императорского хребта, Баритовых гор в котловине Дерюгина (Охотское море).

2. Продолжить описание новых таксонов глубоководных организмов исследуемых экосистем.

3. Выполнить секвенирование метагеномов сообществ экстремофильных микроорганизмов в зонах метановых выходов с целью получения представлений об их составе, разнообразии, функциональных свойствах.

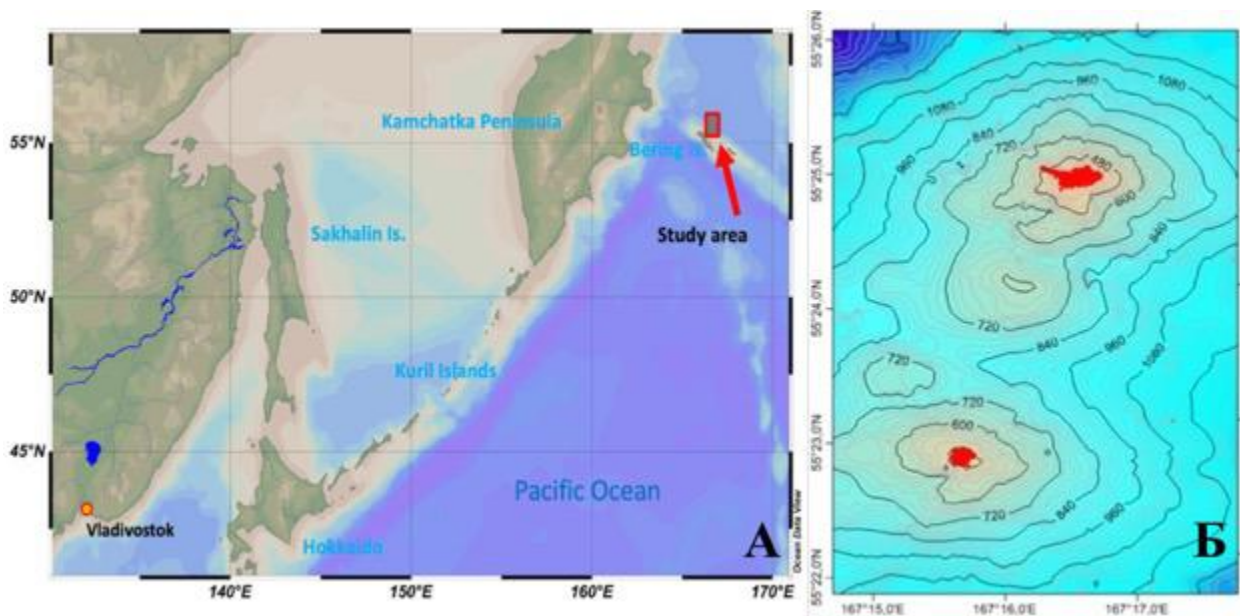
4. На примере массовых видов изучить адаптационные механизмы гидробионтов к обитанию в экстремальных условиях среды.

5. Провести расшифровку липидома массовых видов глубоководных беспозвоночных животных; провести поиск новых жирных кислот и молекулярных видов липидов, имеющих потенциальную биологическую активность.

6. Продолжить массовый скрининг и экстракцию биологически активных веществ из глубоководных гидробионтов.

В ходе реализации работ на втором этапе выполнены все поставленные задачи и получены следующие основные результаты:

Для бентосных сообществ вулкана Пийпа характерна выраженная вертикальная зональность для сообществ мягких грунтов северного и южного склонов. Для твердых субстратов изменения носят менее четкий характер, однако и здесь наблюдаются последовательные изменения. На уровне крупных таксонов для обоих склонов наблюдаются сходные изменения, например, доминирующих таксонов голотурий, образование характерных ландшафтов губок *Farrea* и *Rossellidae* на глубинах 1800-750 м, смена губочников альционариями примерно с 750 м. Можно отметить и несколько крайне ярких и специфических черт сообществ обоих склонов, ранее не описанных для глубоководных акваторий северо-западной части Тихого океана: доминирование класса *Enteropneusta* на глубинах 2300-1700 м, скопления *Trachymedusae* на глубинах 2500-2000 м. При этом наблюдался и ряд существенных различий как в глубинах переходов от одних сообществ к другим, так и в составе доминирующих групп. В частности, хорошо выраженные и протяженные на южном склоне сообщества морских перьев *Anthoptylum grandiflora* на северном склоне не обнаружены. Отдельно необходимо отметить характерные скопления бентопелагических *Trachimedusae* на глубинах 2500-2000 м, а



Положение вулкана Пийпа в тыловой части Алеутской островной дуги, юго-восточная часть Берингова моря (а); батиметрия северной и южной вершин (б), красная заливка показывает участки с бактериальными матами, маркирующими излияние диффузных флюидов

также кишечнодышащих на глубинах 2300-1800, ранее не отмеченные для других глубоководных акваторий северо-западной части Тихого океана. Непосредственно на Северной и Южной вершинах вулкана выявлено примерно одинаковое число видов макрофауны - 85 и 83 соответственно. На неактивных участках на Северной вершине обнаружено почти в 1,5 раза больше видов (76), чем на Южной (54). На активных же участках видов почти в 2 раза больше на Южной вершине (53), чем на Северной (27). Подчеркивается своеобразие фауны вулкана Пийпа, которое проявляется в следующих чертах: 1) относительно большое число таксонов, специализированных к условиям восстановительных биотопов; 2) наличие облигатных гидротермальных видов (предположительно трех), несмотря на небольшую глубину гидротермальных выходов; 3) обильные поселения седентарных форм (таких как кораллиморфрии и кальциспонгии), использующих богатые пищевые ресурсы биотопа, связанные с гидротермальными условиями и небольшой глубиной расположения вершин вулкана.

На исследованных подводных поднятиях Императорского хребта распределение мегабентосных комплексов формируется под влиянием как градиента глубины, так и локальных условий (тип субстрата, водное движение). Важное значение имеет географический фактор, к северу от гайота Коко состав кораллов (*Octocorallia*) изменяется, глубоководная фауна тропического генезиса уступает место глубоководной бореальной фауне с заметным снижением числа видов, прежде всего горгонарий. В целом смена сообществ следует общей схеме: глубина до 1000 м, мягкие грунты – мелкие

офиуры (клада Euryorphiurida), голотурии *Peniagone*, крабы Portunidae, морские звезды *Ceramaster*; глубина до 1000 м, твердый субстрат – горгонарии сем. Primnoidae и Acanthogorgiidae, ветвистые формы горгонарий рода *Isidella* (сем. Isididae), губки Hexactinellidae (мелкие формы); глубина более 1000 м, мягкие грунты – крупные белые офиуры сем. Ophiodermatidae, мягкие кораллы *Anthomastus* и морские перья рода *Umbellula*, голотурии сем. Synallactidae; глубина более 1000 м, твердый субстрат – кораллы сем. Chrysogorgiidae и Isididae, стебельчатые и бесстебельчатые лилии Stinoidea, морские звезды Brisingidae, губки Hexactinellidae (крупные стебельчатые и воронковидные формы).

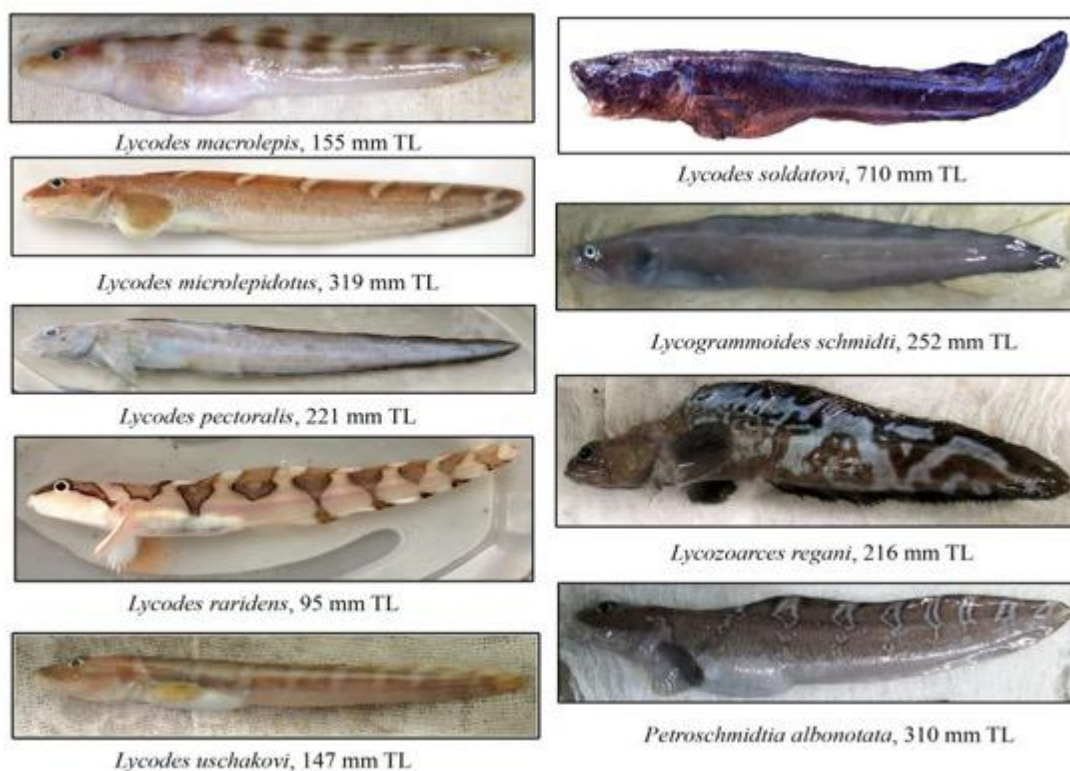
Для впадины Дерюгина характерно наличие нескольких типов высачиваний, значительно различающихся условиями обитания и, как следствие, сообществами гидробионтов. Наименьшее разнообразие мегафауны отмечено на баритовых постройках, где были многочисленны колониальные асцидии, полихеты Serpulidae, эррантные Polynoidae, отмечены стеклянные губки, крабы-галатеиды, креветки, морские звезды, офиуры. На мягких осадках отмечены полихеты, голотурии, морские звезды, симбиотрофные двустворчатые моллюски *Archivesica gigas*.

Выявлен транспацифический ареал у симбиотрофного двустворчатого моллюска *Calypptogena pacifica*, несмотря на то что этот вид приурочен исключительно к восстановительным условиям среды обитания. Генетическое сходство между популяциями западной и восточной Пацифики значительное и позволяет предполагать обмен генами в течение жизни одного поколения. Можно предположить, что генетический обмен заключается за счет расселения личинок. Очень вероятно, что восстановительные условия в Беринговом море встречаются чаще, чем это сейчас известно.

В сборах экспедиции из района Курило-Камчатского желоба на глубине ~5100 м выявлено три экземпляра морских звезд *Caymanostella* cf. *spinamarginata*. Это представители семейства кайманостеллид, обитающие исключительно на затонувшей древесине. Новая находка *Caymanostella* в Северо-Западной Пацифике является самым северным нахождением не только для рода, но и для семейства. Благодаря новому материалу впервые для представителя кайманостеллид были одновременно получены нуклеотидные последовательности пяти генов - три митохондриальных (16S rRNA, 12S rRNA, COI) и два ядерных (18S rRNA, ранний гистон H3). Данные филогенетического анализа указывают на принадлежность семейства Caymanostellidae отряду Valvatida, что существенно уточняет имевшиеся ранее представления.

Проведена ревизия фауны голотурий рода *Peniagone* из северо-западной части Тихого океана. Рассмотрены следующие шесть видов: *Peniagone dubia* и *P. Mus* переописаны, *P. minuta* и *P. saveljevae* описаны как новые для науки, дополнительная информация получена для *P. vitrea* и *P. cf. purpurea*. Виды рода *Peniagone* в северо-западной Пацифике распространены в диапазоне глубин 2400-8200 м. Батиметрический диапазон большинства видов узок, за исключением *P. mus* - одного из самых глубоких представителей рода. За пределами северо-западной Пацифики из отмеченных видов встречается только *P. vitrea*. Получены частичные последовательности COI и 16S рРНК для десяти видов этого рода. Проведен филогенетический анализ, из которого следует, что виды *Peniagone*, обитающие в северо-западной части Тихого океана, не являются близко родственными.

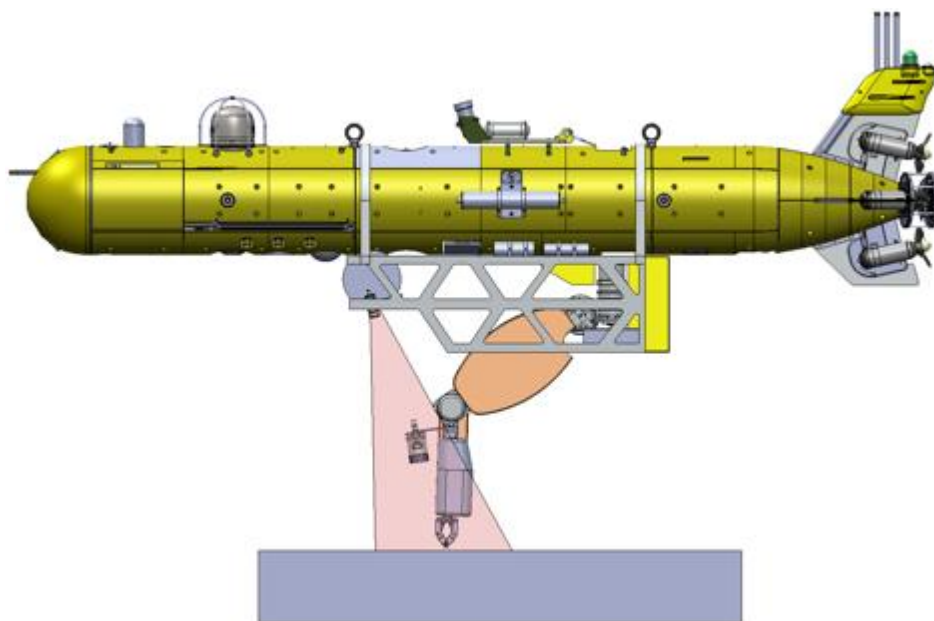
Изучены немертины клады *Tetrastemma*, с использованием нескольких генетических маркеров (18S рРНК, 28S рРНК, гены гистона H3, 16S рРНК и субъединицы I цитохром с оксидазы), OTU (66 образцов, представляющих 53 вида в *Tetrastemma*) с выборкой таксонов, охватывающей всю Eumonostilifera. Анализ показал, что *Tetrastemma* (a) немонафилетична (как и Tetrastemmatidae), (b) содержит основную кладу, состоящую из четырех географически связанных субклад, тогда как (c) *Tetrastemma arcticum* Ушаков, 1926; *Tetrastemma bilineatum* Сое, 1904; *Tetrastemma vittigerum* (Бюргер, 1904 г.); *Tetrastemma wilsoni* Сое, 1943; и два образца, предварительно идентифицированные как *Tetrastemma* sp., выходят за пределы этой основной клады; iv) три вида, *Psammamphiporus* Gibson, 1989 и *Quasitetrastemma* Chernyshev, 2004 образуют субклады внутри основной клады *Tetrastemma*. Таким образом, мы (a) синонимизируем *Psammamphiporus* и *Quasitetrastemma* со старшим названием *Tetrastemma* и (b) устанавливаем *Arctostemma* gen.nov. для *T. arcticum* с образованием *Arctostemma arcticum* (Ушаков, 1926) comb.nov. Из северной Пацифики описан новый вид черных кораллов *Bathypathes pseudoalternata* (Schizopathidae). Предложены признаки, на основании которых новый вид может быть идентифицирован на подводных фотографиях и видео. Описано два новых вида мягких кораллов – *Heteropolyus annae* sp. nov. и *H. roseus* sp. nov.



Zoarcidae, обнаруженные во время донной траловой съёмки 2013 г. в северной части Охотского моря: *Lycodes*, *Lycogrammoides*, *Lycozoarces*, *Petroschmidtia*

Из района Императорского хребта описан новый вид мезопелагических рыб *Eustomias securicula* - второй представитель подрода *Biradiostomias* (Melanostomiidae) в Тихом океане. Это свидетельствует об определённой дивергенции группы в регионе северной Пацифики. Необычный для мезопелагических рыб ареал подрода (Атлантика и северная Пацифика), тем не менее, не уникален и связывается с расселением атлантических видов через Панамский пролив в раннем неогене.

Описаны видовой состав и пространственное распределение бельдюговых в северо-западной части внешнего шельфа Охотского моря и прилегающей части континентального склона. Обнаружена богатая и разнообразная ихтиофауна бельдюговых рыб. Всего зарегистрировано 3664 экземпляра, относящихся к 6 родам и 19 видам. Исследование охватывало два участка шельфа с температурами ниже и выше -1°C . Оба обладали высоким видовым разнообразием, но различным видовым составом. Выявлена четкая вертикальная зональность в распространении видов.



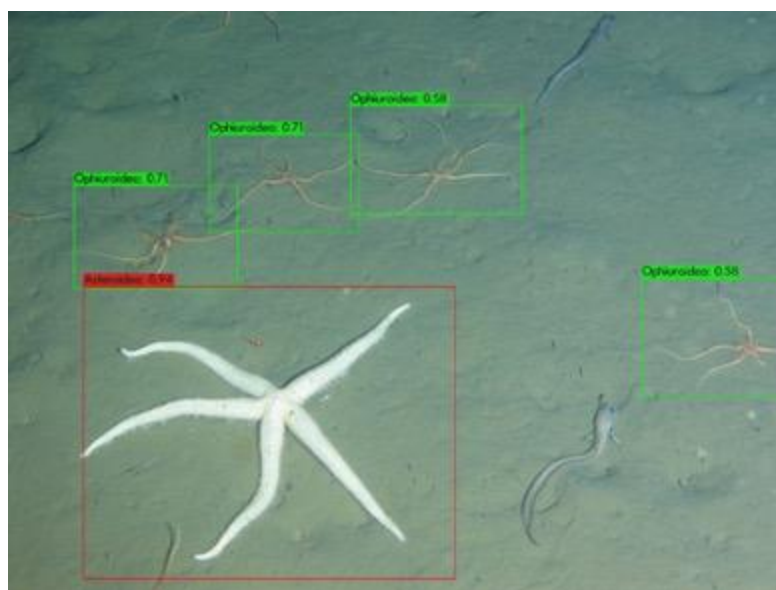
Рабочее положение МК в составе АНПА ММТ-3500 при интеллектуальном управлении от СТЗ аппарата (возможен вариант телеуправления через кабель связи от технологического пульта с джойстиком)

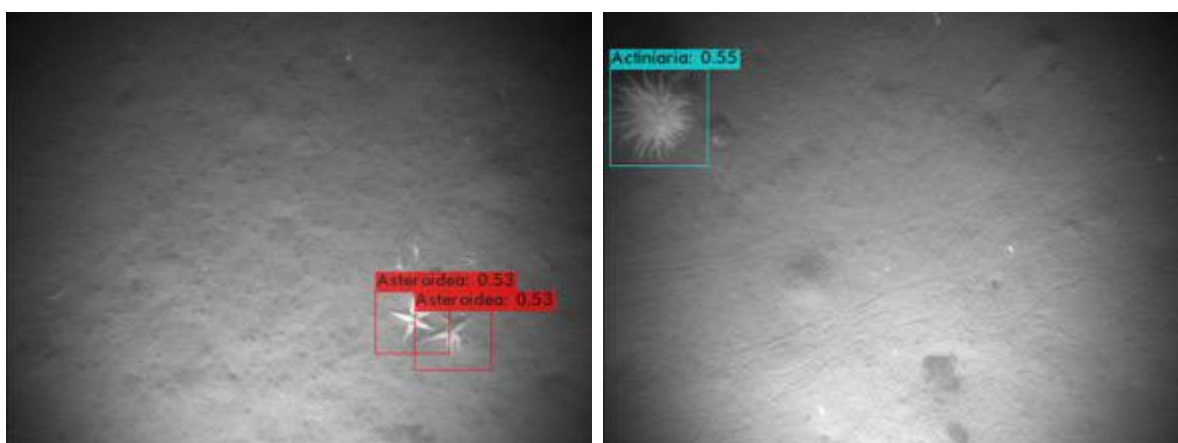
Выполнены разработка, программная реализация и исследование системы управления многозвенными манипуляторами, установленными на НПА. Эта система позволяет без участия человека-оператора идентифицировать целевые объекты с помощью бортовых СТЗ, а также выполнить их захват или другие рабочие действия с помощью манипулятора НПА. Разработаны методы супервизорного выполнения манипуляционных операций под контролем оператора НПА при наличии канала связи с этим аппаратом. Эти методы позволяют автоматически строить и обрабатывать траектории движения манипулятора НПА на основе целеуказаний, задаваемых оператором, с обеспечением визуального контроля выполнения манипуляционных операций. При этом обеспечивается эффективная передача сжатого видеоизображения по гидроакустическому каналу связи с аппаратом. Выполнено проектирование многозвенного манипулятора, устанавливаемого на АНПА ММТ-3500. Этот манипулятор будет использован для выполнения исследовательских манипуляционных операций в исследуемых районах.

Предложен новый метод синтеза высокоточных и высоконадежных систем управления пространственным движением АНПА. Эти системы включают в себя дополнительный контур аккомодации, обеспечивающий своевременное обнаружение, определение величины и компенсацию последствий появления незначительных дефектов,

возникающих в двигателях АНПА. Создана комбинированная навигационная система, используемая для высокоточного управления перемещениями аппарата. Разработаны и внедрены средства, повышающие точность бортовой навигации АНПА, минимизирующие время выполнения промежуточных этапов миссии, а также увеличивающие объем собираемой полезной информации. Эффективность этих средств подтверждена экспериментально. Для обеспечения высокоскоростного информационного обмена АНПА с обеспечивающим судном (постом управления) исследована возможность использования ПМР, который связан с аппаратом электрическим или оптическим кабелем. При этом проведены прикладные исследования по определению конструктивного облика ПМР и оценке влияния возмущений от его буксировки на маневренные характеристики АНПА.

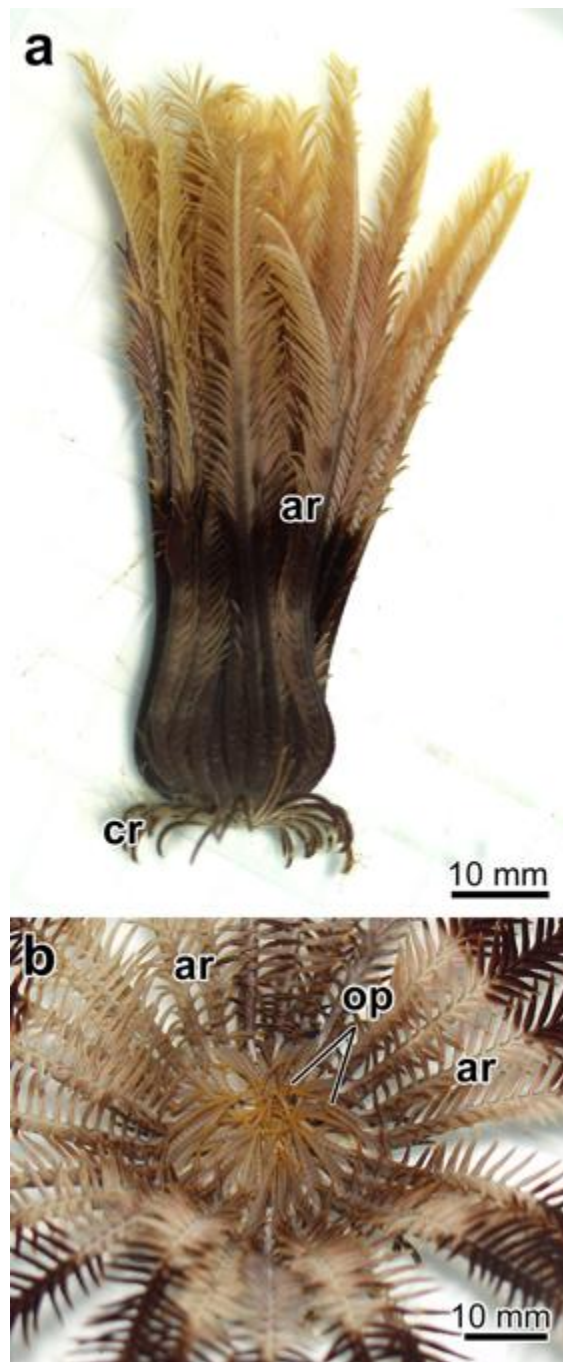
Для распознавания и количественного подсчета гидробионтов с помощью АНПА, оснащенных бортовыми фото-видеосистемами, была использована обученная одноуровневая НС. При этом была продемонстрирована приемлемая точность автоматического распознавания и подсчета подводных объектов. В научно-исследовательской экспедиции проведены успешные глубоководные испытания модернизированного в рамках НИР АНПА ММТ-3500.





Результаты распознавания разных видов объектов

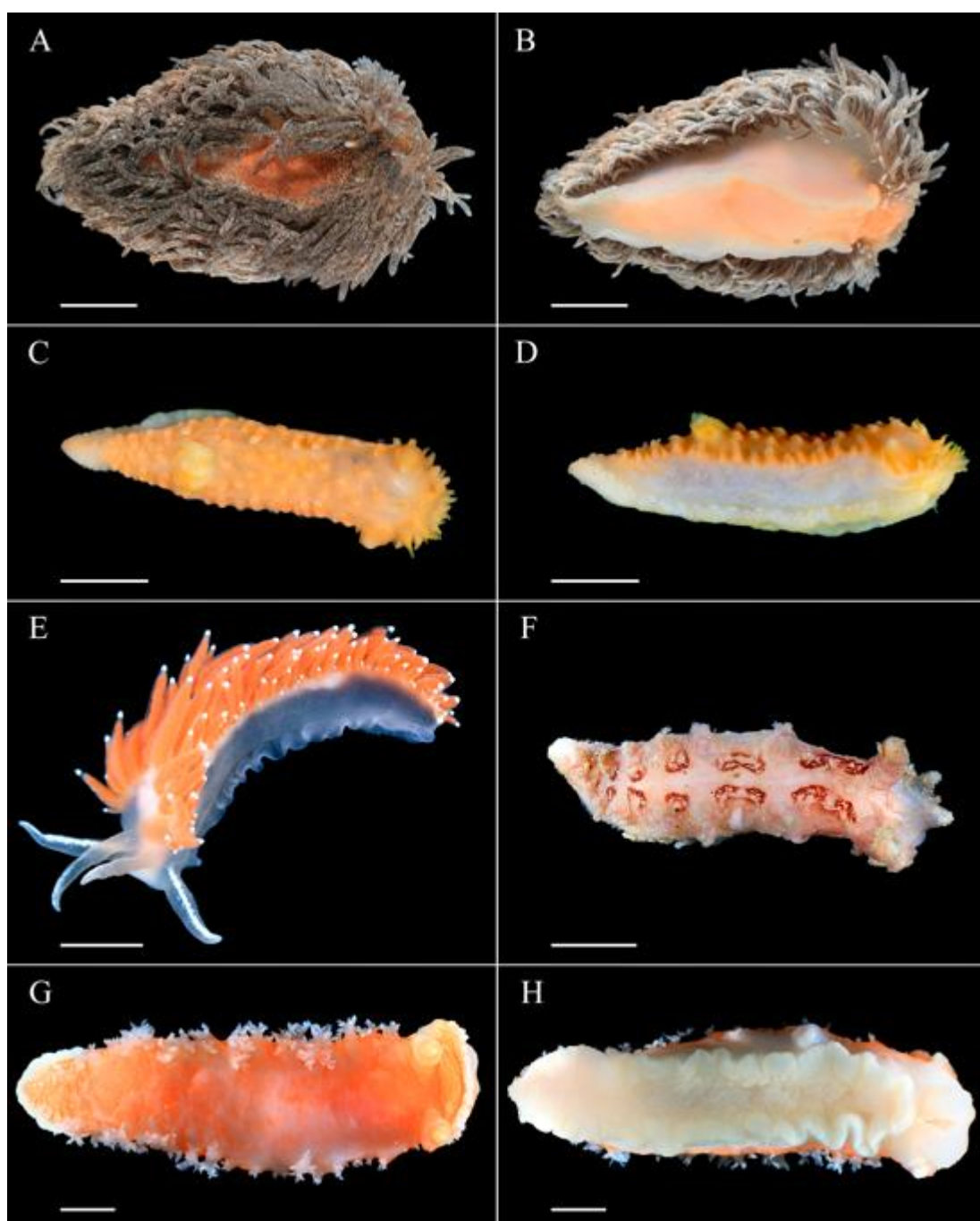
Впервые изучено распределение двадцати двух элементов в трех выделенных по трофическому признаку группах бентосных организмов, а также в абиотических компонентах подводной экосистемы вулкана Пийпа. Выявлено накопление в тканях организмов не только биоэссенциальных тяжелых металлов, но и потенциально токсичных элементов. Концентрация микроэлементов в организмах менялась в пределах 5-и порядков величин (от 10^{-2} до 10^3 мкг г⁻¹). Коэффициент биологического накопления для большинства элементов варьировал от 102 до 104, достигая 105 для Ni, Zn, Ag, Cd и Pb. Выявлено существенное различие в уровне биоаккумуляции Fe и Mn бентосными организмами. В пробах воды с Северной вершины концентрации Mn, Zn, Ag, Cd, Sb, W, Pb были в 2-6 раз выше, а Ba – в 50 раз выше, чем в пробах с Южной вершины, что могло быть обусловлено более низкой температурой флюидов на южной вершине.



Общий вид *Lamprometra palmata*. (а) Боковой вид. (б) Оральный вид. ar рука, cr цирри, op оральные пиннулы

Изучены морфология и регенерация пищеварительной системы и тегмена после аутоотомии висцеральной массы у морской лилии *Lamprometra palmata*. ЮЛК являются основным источником клеток для регенерации кишечника и эпидермиса. Основными механизмами морфогенеза являются миграция клеток, мезенхимо-эпителиальный переход и трансдифференцировка. Через 6 ч после аутоотомии поверхность чашечки покрыта слоем амебоцитов и юксталигаментарных клеток (ЮЛК). Через 14-18 ч после аутоотомии ЮЛК начинают трансдифференцировку и дают начало эпидермису и клеткам пищеварительной

системы. На 1-2-й день после аутомии ЮЛК претерпевают мезенхимо-эпителиальный переход. Некоторые ЮЛК превращаются в типичные эпидермальные клетки, а другая часть ЮЛК образует небольшие замкнутые эпителиальные структуры, представляющие собой зачатки кишечника. На 4-й день после аутомии у животных появляется ротовое отверстие и небольшой анальный конус. На 7-й день после аутомии висцеральная масса и пищеварительная система становятся полностью сформированными, но меньше, чем обычно. Двадцатичетырехчасовое воздействие на особей *L. palmata* 10–7 М раствора колхицина не замедляло регенерацию, а время формирования кишечника было таким же, как и у контрольных животных.



Изученные моллюски. А, В: *Aeolidia papillosa*; С, D - *Colga pacifica*; Е:

Coryphella verrucosa; F: *Dendronotus* sp.; G, H: *Tritonia tetraquetra*. Масштаб, 10 мм Отбор проб проводился на НИС «Академик Опарин» у острова Симушир (Курильские острова, Охотское море, 47° 08' с.ш., 152° 14' в.д.) в июле 2019 г. Всего было отобрано 18 особей моллюсков

Выявлены особенности раннего нейрогенеза двустворчатого моллюска *Acila insignis*, демонстрирующие как сходство, так и отличия от нейронального развития личинок трохофора/велигера. Основные различия заключаются в составе клеток ФМРФа - и 5-HTLIP в АО; отсутствии периферических клеток 5-HT-LIP у ранних предшественников личиночных ганглиев; и отсутствии округлых клеток 5-HT-LIP в АО личинок перикалиммы. Здесь мы четко наблюдали, что личинки протобрюшин имеют АО, состоящее из колбообразных клеток ФМРФа, а также периферических клеток ФМРФа. В результате полученные данные указывают на значительные морфологические различия в расположении и передающей природе клеток АО и периферических нейронов у личинок протобранх и двустворчатых моллюсков автобранх. Но в то же время в раннем нейрогенезе были обнаружены явные нейроморфологические сходства изученных видов протобранх со спиральными, трохозоа и двустворчатыми моллюсками

Результаты исследования строения семенников, сперматогенез и морфология сперматозоидов двух видов палеонемертин сем. Tubulanidae - *Callinera* sp. *Parahubrechtia* sp. показали, что морфология сперматозоидов может использоваться в филогенетическом анализе как удобный дополнительный инструмент. Полученные нами данные имеют большое значение для анализа филогенетических связей не только в высоких таксонах немертин, но и на уровне семейств, а именно семейства Tubulanidae, имеющего глубоководное происхождение (Chernyshev and Polyakova, 2019).

За последние шесть лет количество публикаций с применением липидомики в изучении морских беспозвоночных резко увеличилось, что свидетельствует о всплеске интереса к этой области исследований. Показаны общие закономерности липидомов ракообразных и иглокожих. В молекулах МАДАГ коралла-горгонарии *Paragorgia arborea* алкильные группы (16:0, 14:0 и 18:1), полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) и мононенасыщенные ЖК в основном занимают sn-1, sn-2 и sn-3 положения в глицерине, соответственно. В ФЭ и ФХ преобладают этерные формы (1-О-алкил-2-ацил), в то время как ФИ состоит из 1,2 - диацильной. В ФС обнаружены как этерные, так и диацильные формы. С20 ПНЖК в sn-2 положении в основном присутствуют в ФХ, а С24 ПНЖК, хемотаксономические маркеры мягких кораллов, обнаружены в ФС, ФИ и ФЭ. Сравнение неполярных частей молекул показало, что МАДАГ, этерные ФЭ и ФХ могут происходить из одного набора 1-О-алкил-2-ацил - глицеринов. Этерный ФЭ может быть преобразован в

этерный ФС посредством реакции обмена оснований. Диацилглицериновый фрагмент, полученная из фосфатидной кислоты, может быть предшественником диацил- ФС, ФХ и ФИ. Таким образом, показано биосинтетическое происхождение этерных и диацильных липидов, подтверждены общие пути биосинтеза липидов и выявлена взаимосвязь между МАДАГ и ГФЛ, а также среди классов ГФЛ у горгонарий. Определены профили ЖК пяти видов голожаберных моллюсков, принадлежащих к семействам Polyceridae, Tritoniidae, Dendronotidae, Coryphellidae и Aeolidiidae. Специализация кормления глубоководных и мелководных видов сравнивалась на основе FATM, присутствующего в тканях их организма. Различные виды, происходящие с разных глубин, но со схожими источниками пищи, показали схожие профили FATM. Видовой состав мягких кораллов, потребляемых *T. tetraquetra*, по-видимому, меняется с увеличением глубины. Глубоководные голожаберники из рода *Colga* являются наиболее многообещающими объектами для будущих исследований, так как необходимо оценить соотношение между диетическими и самосинтезирующимися ПНЖК, которые они содержат. Будущие исследования с использованием молекулярных штрих-кодов для идентификации содержимого кишечника голожаберников могут подтвердить наши предположения о режимах питания глубоководных видов, о которых здесь сообщается, поскольку FATM предоставляет косвенные доказательства трофических взаимодействий и часто затрудняет идентификацию добычи на уровне рода или вида.

Метагеномные исследования микробных сообществ в зонах метановых высачиваний позволили значительно расширить спектр таксонов микроорганизмов, выявленных в районах газовых сипов Японского и Охотского морей. Для обоих районов исследования были характерны микроорганизмы, которые в качестве адаптации используют редукцию генетического аппарата и уменьшение размеров клетки. В Охотском море они представлены *Patescibacteria*, а в Японском – *Planctomycetes*. Наличие в микробных сообществах микроорганизмов, встречающихся в зонах термальных выходов и обнаружения газогидратов в Охотском море, свидетельствует о большой нефте-и газонасыщенности донных отложений и о абиогенном происхождении метана в этих газовых сипах.

Впервые для пяти видов глубоководных морских анемонов (*Cnidaria*, отряды *Actiniaria* и *Corallimorpharia*), собранных у Курильских и Командорских островов в Северо-Западной Пацифике, была проведена оценка гемолитической, цитотоксической, антимикробной и ферментативной активности продуцируемых ими соединений. Показано, что максимальную гемолитическую активность проявляют экстракты *Liponema brevicorne* и *Actinostola callosa*, в то время как высокая цитотоксическая активность в

отношении мышинных спленоцитов и клеток карциномы Эрлиха обнаружена в экстракте *Actinostola faeculenta*. Наибольшую активность в отношении клеток карциномы Эрлиха продемонстрировали экстракты *Corallimorphus* cf. *pilatus*, но они оказались не токсичными для клеток селезенки мыши. Показано, что морские анемоны *C. cf. pilatus* и *Stomphia coccinea* являются перспективными источниками антимикробных и противогрибковых соединений, активных в отношении грамположительных бактерий *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* и дрожжеподобных грибов *Candida albicans*. Обнаружено, что экстракты всех морских анемонов содержат ингибиторы α -галактозидазы. На основании данных масс-спектрометрического анализа было показано, что экстракты *L. brevicorne* и *C. cf. pilatus* содержат большое количество пептидов, преимущественно с молекулярной массой 4000–5900 Да, которые могут принадлежать как к известным, так и к новым структурным классам токсинов. Таким образом, показано, что глубоководные морские анемоны являются перспективным источником соединений для открытия новых лекарственных препаратов.

Был проведен сравнительный анализ первичных структур и каталитических свойств двух рекомбинантных эндо-1,3- β -D-глюканаз из морских бактерий *Formosa agariphila* КММ 3901 (GFAG) и *F. algae* КММ 3553 (GFA). Оба фермента имели одинаковую молекулярную массу 61 кДа, температурный оптимум 45 °С и сопоставимые диапазоны термической стабильности и Км. В то же время набор продуктов гидролиза ламинарана эндо-1,3- β -D-глюканазой из *F. algae* был одинаков при pH 4–9, pH-зависимость состава продуктов гидролиза ламинарана эндо-1,3- β -D-глюканазой из *F. agariphila* значительно варьировала: при pH 5–6 преобладали дисахариды, при pH 4 и 7–8 - пентасахариды, при pH 9 - трисахариды. Были обнаружены различия в действии этих ферментов на ламинаран и 4-метилумбеллиферил- β -D-глюкозид, что указывает на наличие трансгликозилирующей активности эндо-1,3- β -D-глюканазы из *F. algae* и ее отсутствие в эндо-1,3- β -D-глюканазы из *F. agariphila*. Два полисахарида, ассоциированные с клеточной стенкой, были выделены из глубоководной морской бактерии *Devosia submarina* КММ 9415Т. Было обнаружено, что первый полисахарид с молекулярной массой около 20,7 кДа содержит D-арабинозу, была установлена структура его повторяющейся единицы дисахарида. Второй полисахарид, как было показано, состоит из D-галактозы и редкого компонента бактериальных гликанов - D-ксилулозы. Структуры КПС *D. submarina* КММ 9415Т являются уникальными среди известных бактериальных полисахаридов. Оба полисахарида нейтральны, что не характерно для морских бактерий. Другой особенностью является присутствие в составе одно из КПС редкого моносахарида – ксилулозы. Высказано предположение, что в случае *D. submarina*

КММ 9415Т способность продуцировать структурно различные полисахариды может быть полезной для адаптации к параметрам глубоководной среды.

Было продолжено изучение гликозидного состава голотурии *Thyonidium* (= *Duasmodyctyla*) *kurilensis* (Levin), собранной в водах Охотского моря у острова Онекотан и выделены девять новых тритерпеновых гликозидов, курилозиды А3, D1, G, H, I, II, J, K и K1, а также два десульфатированных производных, DS-курилозида L и DS-курилозида M. Для каждого гликозида была подобрана оптимальная схема выделения. Были установлены структуры выделенных соединений. В результате было открыто пять новых типов углеводных цепей (курилозиды групп G–K), включая трисульфатированные пента-(курилозиды группы I) и гексаозиды (курилозиды H). Также в выделенных гликозидах были найдены три новых негостановых агликона, не имеющие лактонного цикла, два из них являются 22,23,24,25,26,27-гекса-*нор*-ланостановыми производными и один – имеющий нормальную боковую цепь. Большинство агликонов гликозидов *T. kurilensis* отличаются друг от друга заместителями при C(16) (а- и b-ориентированные гидрокси- или ацетокси-группы, или кето-группа) и C(20) (гидрокси-, ацетокси-, или кето-группы), представляющие биогенетически родственные ряды соединений. Обнаружение 16b-гидроксилированных агликонов сделано впервые и они могут рассматриваться как “горячие метаболиты” - биосинтетические предшественники агликонов с 16b-ацетокси-группой.

Исследование дальневосточной голотурии *Psolus chitonoides*, собранной возле острова Беринга, привело к выделению серии новых тритерпеновых тетра-, пента- и гексаозидов, хитонидозидов А, А1, В, С, D, E, E1, F, G и H, содержащих одну или две сульфатные группы. Четыре выделенных соединения, хитонидозиды А, А1, С и G, характеризовались необычными агликонами нового типа, имеющими 18(20)-простую эфирную связь, у которых отсутствовал лактон в противоположность широко распространенным в голотуриях гостановым производным. Другой неожиданной находкой является остаток 3-*O*-метилксилозы в качестве терминального в углеводных цепях хитонидозидов В, С, E и E1, что ранее не было известно для гликозидов голотурий, принадлежащих к семейству *Psolidae*. Более того, более того, этот моносахарид сульфатирован в хитонидозиде С, образуя беспрецедентный 3-*O*-метилксилозный 4-*O*-сульфатированный остаток. В хитонидозидах F и H обнаружен сульфатированный по необычному положению 4 терминальный остаток 3-*O*-метилглюкозы. Хитонидозиды С, F и H также характеризовались тетрасахаридной частью с уменьшенной частью нижней полуцепи, такая архитектура необычна для гликозидов голотурий. Была изучена цитотоксическая активность выделенных

хитиноидозидов на мышинных и человеческих эритроцитах клеточных линий рака человека: аденосаркоме HeLa, колоректальной аденокарциноме DLD-1, и лейкемических промиелобластах HL-60. Сделаны выводы о взаимосвязи структура-активность для исследованных веществ.

Была исследована биологическая активность метаболитов, выделенных из морских грибов, в том числе изолированных из осадочных пород. Было изучено влияние трех п-терфенильных поликетидов из *Aspergillus candidus* КММ 4676, терфениллина, 3''-гидрокситерфениллина и 3'-гидрокситерфениллина, и цереброзида флавузида В из *Penicillium islandicum* (= *Talaromyces islandicus*) против действия нейротоксинов, ротенона и параквата, на жизнеспособность клеток Neuro-2a. Предварительная инкубация с соединениями значительно снижала уровень АФК в клетках, обработанных ротеноном и паракватом. Было показано, что исследованные поликетиды значительно повышают жизнеспособность клеток, обработанных ротеноном, в двух использованных анализах, но эти вещества влияли только на жизнеспособность обработанных паракватом клеток, измеренную методом оценки выхода ЛДГ. Флавузид В статистически увеличивал жизнеспособность обработанных паракватом клеток в исследованиях, проведенных методами как МТТ, так и ЛДГ, однако это вещество увеличивало жизнеспособность клеток, обработанных ротеноном, только при исследовании методом ЛДГ. Сделаны выводы о зависимости структура – активность для производных п-терфенила, а также возможных механизмах цитопротекторного действия всех изученных соединений.

Было изучено влияние цереброзида флавузида В из морского гриба *Penicillium islandicum* на жизнеспособность, апоптоз, общую активность каспаз и клеточный цикл в эпидермальных кератиноцитах человека линии HaCaT, культивируемых совместно с *Staphylococcus aureus*, а также влияние флавузида В на клетки HaCaT, обработанные ЛПС. Также было исследовано влияние флавузида В на рост бактерий и образование биопленок *S. aureus*, а также его влияние на ферментативную активность сортазы А. Было обнаружено, что *S. aureus*, совместно культивируемые с кератиноцитами, вызывают каспазозависимый апоптоз и гибель клеток, останавливают клеточный цикл в фазе G0/G1 и увеличивают клеточное воспаление. Цереброзид флавузид В продемонстрировал свои антимикробные и противовоспалительные свойства, существенно устраняя все негативные последствия, вызванные совместным культивированием кератиноцитов с *S. aureus* или бактериальным ЛПС. Двойное действие флавузида В может быть высокоэффективным при лечении бактериальных поражений кожи и в будущем будет изучено в экспериментах *in vivo*. Данные, полученные в экспериментах *in vivo* и *in vitro*, указывают на способность ХС стимулировать иммунный ответ и умеренно активировать

макрофаги. Причем иммуностимулирующие свойства ХС зависят от концентрации. Механизмы активности ХС и ЛПС частично схожи, но, вероятно, ХС также действует через другие сигнальные пути, не приводя к повреждению клеток. Это исследование может служить основой для более тщательного и детального изучения иммуностимулирующей активности хитинового спирта.



Виды иглокожих, экстракты которых проявили наибольшую Wnt-ингибирующую активность: А - голотурия *Paelopatides* sp.,
Б – офиура *Gorgonocephalus* sp.

Определены перспективные группы животных, экстракты которых продемонстрировали специфическую активность против Wnt-сигнального пути. Впервые описаны фототоксические свойства соединения (3S,4S)-14-этил-9-(гидроксиметил)-4, 8, 13, 18-тетраметил-20-оксо-3-форбинпропановой кислоты *in vitro*. Полученные данные о фототоксичности показывают, что соединение в значительной степени проявляет способность понижать устойчивость клеток к неблагоприятному воздействию красного света, что делает его интересным кандидатом в дальнейших исследованиях в качестве фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии рака молочной железы. Показано, что порфирин дозозависимым образом проявляет острые фототоксические эффекты со значениями IC₅₀ для линии BT-20: 0,4μM (по сравнению с собственной токсичностью 30+-5μM), для линии MCF-7: 1,4μM (по сравнению с собственной токсичностью 25+-6μM) и для линии MDA-MB-231 0,9μM (по сравнению с собственной токсичностью 38+-5 μM). Проверена и опровергнута гипотеза о диетическом происхождении порфирина в организме офиур.

В результате работ по проекту был сделан вывод о перспективности изучения глубоководных морских микроорганизмов и беспозвоночных как источников новых природных веществ, обладающих уникальными структурными особенностями и фармакологическим потенциалом.