

NaCl в течение 30-60 мин, после чего корни окрашивались 10 мин в 50 мкмоль/л 2,7-дихлородигидрофлуоресцеин диацетате (H₂DCFDA), промывались буфером (ммоль/л: 0,1 KCl, 0,1 CaCl₂, 1 Трис / 2 Мес, pH 6,0) и анализировались при помощи микроскопа Nikon Eclipse TS100 (фильтр FITC). Было показано, что интенсивность флуоресценции зонда в клетках корня арабидопсиса возрастала с увеличением концентрации соли. Максимальное увеличение свечения H₂DCFDA (в 2,4 раза по сравнению с контролем) в зоне всасывания вызывала обработка летальной концентрацией NaCl (200 ммоль/л) на протяжении 60 мин, после чего интенсивность флуоресценции снижалась. В кончиках корней достоверное увеличение интенсивности флуоресценции в 1,5 раза было отмечено на 45 мин, после чего интенсивность флуоресценции не изменялась. Совместная обработка 200 ммоль/л NaCl с антиоксидантами уменьшала интенсивность флуоресценции H₂DCFDA, при этом, наибольший протекторный эффект наблюдался при добавлении 1 мМ тиомочевины (интенсивность флуоресценции пробы снижалась на 53% по сравнению с обработкой солью). По-видимому, токсический эффект NaCl был обусловлен повышением уровня АФК, в первую очередь гидроксильных радикалов.

Изучение кинетики образования ковалентных аддуктов при взаимодействии вторичных метаболитов растений с белками пищи и организма человека в пептидной модельной системе

**Алхаже К.^{А*}, Голушко Н. И.^{А,Б}, Билова Т. Е.^{А,Б}, Ерофеева Н. О.^Б,
Соболева А. В.^А, Фролов А. А.^А**

^А *Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Лаборатория аналитической биохимии и биотехнологии, Москва, Российская Федерация.*

**E-mail: katrina.994.g@gmail.com*

^Б *Санкт-Петербургский государственный университет, Кафедра физиологии и биохимии растений, Санкт-Петербург, Российская Федерация.*

Гликирование белков и образующиеся в ходе этого процесса конечные продукты глубокого гликирования (КПГГ) рассматриваются в качестве ключевых факторов системного воспаления. Известно, что системное субклиническое воспаление лежит в основе возникновения и патогенеза ряда связанных с возрастом хронических расстройств, таких как сахарный диабет, сердечно-сосудистые и нейродегенеративные заболевания. К сожалению, синтетические лекарственные препараты, направленные на снижение вредного воздействия КПГГ на организм человека, обладают ши-

роким спектром нежелательных побочных эффектов. Поэтому, поиск растительных соединений, обладающих антигликирующими свойствами, является особо актуальным.

Известно, что в основе антигликирующего эффекта вторичных метаболитов растений могут лежать различные механизмы, чаще всего так или иначе связанные с их антиоксидантной активностью. Однако растительные КППГ накапливаются в плазме крови вегетарианцев, в то время как растительные соединения быстро метаболизируются и выводятся из организма человека. Это предлагает дополнительный механизм, обуславливающий пролонгированное противовоспалительное действие этих природных соединений. Высокая реактивность растительных вторичных метаболитов в отношении образования ковалентных аддуктов с белками пищи и организма человека может служить важной основой этого эффекта. Образование белковых аддуктов хорошо известно для полифенолов и электрофильных серосодержащих соединений. Однако, несмотря на имеющуюся информацию о механизмах таких ковалентных взаимодействий, конкретные структуры образующихся белковых аддуктов и молекулярные механизмы, лежащие в основе антигликирующих эффектов, остаются в значительной степени неохарактеризованными. В связи с этим цель данной работы была детальное изучение кинетики образования и деградации потенциальных пептидных аддуктов вторичных метаболитов растений, образующихся в реакциях с модельными синтетическими декапептидами, в физиологических условиях и условиях термической обработки пищевых природных продуктов. На первом этапе были поставлены инкубации четырех синтетических декапептидов с последовательностью Ac-AFGSAXASGA-NH₂, содержащих в центральной позиции реактивный аминокислотный остаток (X – цистеин C, лизин K, гистидин H или аргинин R) с 10 репрезентативными вторичными метаболитами (кофейная кислота, феруловая кислота, галловая кислота, *p*-кумаровая кислота, галлат эпигаллокатехин, хлорид цианидина, кверцетин, сульфорафан, аллиллизотиоцианат, диаллилдисульфид) при 37°C в течение (0, 1, 3, 7, 14, 21 дней) и при 95°C в течение (0, 5, 15, 30, 60, 120 мин), имитирующих температуру организма человека и приготовления пищи, соответственно. Был проведен хромато-масс-спектрометрический анализ состава реакционных смесей для выявления образовавшихся потенциальных пептидных аддуктов, которые, после чего, были аннотированы по времени удерживания (t_R) и характеристическому отношению массы к заряду (m/z) по сравнению с контролем в отсутствии растительных метаболитов.

Было показано, что наибольшее количество потенциальных аддуктов образовалось при взаимодействии пептида Ac-AFGSACASGA-NH₂ с метаболитами при двух температурах, а наименьшее количество продуктов

было аннотировано в инкубациях пептида Ac-AFGSAH~~A~~SGA-NH₂ как при 95°C, так и при 37°C. При этом во всех инкубациях пептида Ac-AFGSARASGA-NH₂ не было выявлено никаких специфических аддуктов. Также, серосодержащие соединения оказались более реакционноспособными в отношении модельных пептидов, чем полифенолы. Для оценки кинетики формирования потенциальных аддуктов, полученные в ходе УВЭЖХ-МС анализа данные были обработаны в программе MS-DIAL. Это позволило определить временные точки с наибольшей интенсивностью сигнала для всех аннотированных ионных масс. Было выявлено, что сигналы большинства аддуктов достигали наибольшей интенсивности на 21й день при 37°C, а в инкубациях при 95°C через 2 часа (120 мин).

Для подтверждения первичной структуры индивидуальных пептидных аддуктов был проведен тандемный масс-спектрометрический анализ. На основе обработки полученных данных будут предложены пары пептид-метаболит для полупрепаративного получения, очистки, и идентификации точных структур пептидных аддуктов методом ЯМР спектроскопии. Дальше планируется оценка противовоспалительной активности этих аддуктов на оптимизированной в группе клеточной модели ТНР-1, представляющей линию острой моноцитарной лейкемии человека. Таким образом, понимание молекулярных механизмов биологической активности в отношении антигликирующего эффекта природных белковых аддуктов обеспечивает базу для разработки антивозрастных перспективных соединений и улучшения стратегий питания в пищевой и фармацевтической промышленности.

Продукция АФК на генеративных органах покрытосеменных растений при поранении

**Бабушкина К. О.^{А*}, Лунёва О. Г.^В, Брейгина М. А.^А,
Успенская М. С.^В**

^А *Московский государственный университет, Биологический факультет, кафедра физиологии растений, Москва, Россия. *E-mail: pollen-ions@yandex.ru*

^В *Московский государственный университет, Биологический факультет, кафедра биофизики, Москва, Россия.*

^В *НОЦ ботанический сад МГУ.*

Начальные этапы опыления у покрытосеменных растений характеризуются взаимодействием пыльцы с рыльцем, на котором у ряда растений выделяется экссудат – вязкая жидкость, содержащая углеводы, липиды и низкомолекулярные соединения. Пыльца, попадая на влажное рыльце,