

АННОТИРОВАННЫЙ ОТЧЕТ

о результатах НИР по гранту за 2022-2023 год

Конкурс 2022 года на соискание грантов

для поддержки научно-исследовательской работы аспирантов и молодых сотрудников ИГУ.

Направление Биология, почвоведение и биотехнологии

Шифр гранта 091-22-316

1. Наименование НИР по гранту Первичный скрининг биотехнологического потенциала эмбриональных форм развития байкальских эндемичных и палеарктических беспозвоночных

2. Структурное подразделение (кафедра, лаборатория) Лаборатория экспериментальной нейрофизиологии НИЧ ФГБОУ ВО «ИГУ»

3. Исполнитель НИР Власова Анфиса Александровна

5. Ожидаемые результаты в соответствии с заявленным планом работы

- Будет проведена оценка токсичности полученных экстрактов яиц байкальских моллюсков с помощью методики измерения оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer).
- Будет приведен перечень MRM переходов для известных соединений выделенных из яиц моллюсков для первичного масс-спектрометрического анализа, сопряженного с высокоэффективной жидкостной хроматографией.
- Будет проведен анализ патентного ландшафта для изучения уникальности полученного продукта и дальнейшего применения в области косметологии или медицины.

6. Основные полученные научные результаты

Оценка токсичности экстрактов яиц моллюсков с помощью методики измерения оптической плотности культуры водоросли хлорелла.

Для отработки методики измерения оптической плотности культуры *Chlorella vulgaris* Beijer. были отобраны яйца брюхоногих моллюсков *Achatina* sp. Яйца моллюсков (возраст 1-2 дня) сушили в суховоздушном термостате (СПУ ТС-1/20, СКТБ СПУ, Россия) при 36 °С в течение 5 дней, далее растирали в порошок и готовили 10% водный экстракт. Яичный порошок с водой в пробирках на 50 мл типа "Falcon" встряхивали (Vortex V-1 plus, BioSan, Латвия) в течение 15 минут, после чего центрифугировали 10 минут при 3 000rpm (DM 0412 Hettich, США).

Для оценки токсичности экстрактов яиц готовили следующие растворы: концентрированный раствор (10% раствор без разбавления), растворы с разбавлением в 10 и 100 раз. К этим растворам добавляли *C. vulgaris* Beijer с оптической плотностью 0,020. Спустя 48 часов от начала эксперимента во всех условиях измеряли оптическую плотность с помощью спектрофотометра (ПЭ-5300В, ПромЭкоЛаб, Россия) при длине волны 560 нм. Далее рассчитывали относительную разницу (в %) средней величины оптической плотности для каждого разведения по сравнению с контролем.

В ходе работы были получены следующие данные: в растворе с разбавлением в 100 раз прирост водоросли составил около 300%, а в растворе с разбавлением в 10 раз прирост водоросли составил более 2 000%. В концентрированном растворе прирост водоросли составил более 3 000%. Это может свидетельствовать о том, что растворы являются токсичными, а для получения рабочих и не токсичных экстрактов нужно использовать ряд разбавлений, от 100 раз и более, что допустимо для работы с водными вытяжками. Также повышенная токсичность может свидетельствовать о порче белковых продуктов в ходе 48-часовой культивации при 36 °С.

После первичной отработки методики измерения оптической плотности культуры водоросли *C. vulgaris* Beijer с помощью яиц моллюсков *Achatina* sp. были проведены следующие работы:

1. Были сконструированы многоразовые ловушки для пробоотбора байкальских моллюсков семейства Baicaliidae.
2. Были проведены зимние полевые экспедиции с использованием ловушек в поселок Бугульдейка, Ольхонский район. Ловушки были установлены на глубине 5м, 10м и 100м. Проверка ловушек проводилась спустя 7 дней после установки. Были отобраны байкальские моллюски в количестве 120 штук и их яйца.

Перечень MRM переходов для известных соединений выделенных из яиц моллюсков для первичного масс-спектрометрического анализа, сопряженного с высокоэффективной жидкостной хроматографией

В таблице представлен перечень MRM переходов для известных соединений, выделенных из моллюсков и их яиц для первичного масс-спектрометрического анализа, сопряженного с высокоэффективной жидкостной хроматографией.

Таблица MRM переходы

Вещества	Свойство/ действие на организм	Ионы-предшественники (m/z)	Ионы-продукты (m/z)	Ссылки
Астаксантин	Антиоксидант.	597	147	https://doi.org/10.1017/S0007114510005398
Глутатион	Антиоксидант.	308	179 76	https://doi.org/10.1021/jf504383g
Гесперидин	Флаван. Противогрибковая, противовирусная, антигельминтная, антиоксидантная и моллюскоцидная активность.	611	303 465 449 345	https://doi.org/10.3390/molecules27103170
Диосмин		608	463	
Гесперетин		302	177 153	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/72281
Диосметин		300	286 183	
				https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281612

11- α - ацетоксипр огестерона	Прогестерон - стероидный гормон. Противогрибковые свойства.	372	313 295 277	https://doi.org/10.3390/molecules27103170
Лютеолин	Тетрагидроксифлаво н. Противогрибковое действие.	286	153 241	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280445
Линолевая кислота	Полиненасыщенная незаменимая жирная кислота. Противогрибковые свойства.	280	153 177	https://doi.org/10.3390/molecules27103170

В таблице представлены пептиды, каротиноиды, флавоны, жирные кислоты и стероидные гормоны, обладающие антиоксидантной, противогрибковой и противовирусной активностями. Перечисленные молекулы могут выступать маркерами для реализации диссертационного исследования по теме «Экологические и биохимические особенности эмбриональных форм развития беспозвоночных озера Байкал»

Анализ патентного ландшафта.

Имеются патенты RU2393874C2 и RU2754661C2, направленные на получение композиций для лечения рака. Композиции содержат агглютинин *Helix pomatia* и токсины *Helix pomatia*, которые выделяются из самих брюхоногих моллюсков.

Так же существует патент WO2014085876A1, который направлен на разработку косметической композиции. Представленный патент и похожие на него патенты предлагают уже готовую композицию, в составе которой содержится не только экстракт улиток или их яиц, но и другие компоненты.

Патент BG3606U1 представляет конструкцию фермы для получения яиц брюхоногих моллюсков *Helix aspersa maxima*. Однако, в России существуют фермы, только для разведения виноградных улиток в качестве мяса. Это свидетельствует о том, что в России не проводятся исследования биохимического потенциала эмбриональных форм брюхоногих моллюсков.

Согласно патентному анализу, можно сделать вывод об не изученности данной темы в РФ. В последние несколько лет наблюдается увеличение количества патентных документов, в которых фигурируют интересные термины (snail extract, snail egg extract).

Подводя итоги научно-исследовательской работы, можно сделать вывод, что брюхоногие моллюски и их эмбриональные формы имеют высокий биотехнологический потенциал.

7. Предполагаемое использование результатов, в том числе в учебном процессе

В настоящее время, на российском рынке представлено множество косметических продуктов, содержащих муцин брюхоногих моллюсков. Поскольку имеется спрос на продукцию, содержащую экстракты слизи улиток, а также описаны биомедицинские эффекты различных экстрактов, получаемых из яиц, полагается, что полученные экстракты будут являться действующим веществом в фармацевтических и косметических средствах.

Часть материалов будет включена в программу практических занятий РПД «Экологическая физиология гидробионтов» (лектор: к.б.н Аксёнов-Грибанов Денис Викторович).

8. Перечень публикаций по результатам работы (статьи, доклады) с приложением оттисков или рукописей, направленных в печать

Дмитриева М.Е. (2022) Оценка синтеза антиоксидантов и нейтропротекторов оксифильными микроорганизмами озера Байкал / М.Е. Дмитриева, В.Н. Шелковникова, А.Ю. Бельшенко, Е.В. Малыгина, М.М. Моргунова, **А.А. Власова**, Н.А. Имидоева, Т.Ю. Тельнова, Д.В. Аксёнов-Грибанов // 3-я Международная научно-практическая конференция «Современные достижения химико-биологических наук в профилактической

и клинической медицине»". 1-2 декабря 2022. - Сборник статей. - 271-276
<https://elibrary.ru/item.asp?id=49905882>

Власова А. А. (2023) Первичная оценка токсичности экстрактов яиц брюхоногих моллюсков / А. А. Власова, Т. Ю. Тельнова, А. Ю. Бельшенко, Е. В. Малыгина, М. Е. Дмитриева, Е. А., Д. В. Аксёнов-Грибанов // XIX Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Перспективны Свободный - 2023». 24 – 29 апреля 2023 г. – сборник тезисов. (В печати, РИНЦ)

Исполнитель НИР по гранту _____ (Власова А.А.)