

верно увеличилось на 24,5% (с $1,209 \pm 0,065$ до $1,505 \pm 0,141$ мкмоль/л, $P < 0,05$).

Поскольку тиамин и ТДФ представляют собой транспортные формы витамина В₁ в сыворотке крови (ТДФ локализован исключительно в форменных элементах), повышение их концентраций на фоне неизменного количества ТДФ указывает на мобилизацию витамина В₁ из других органов и тканей. Физиологическое значение выброса ТДФ и тиамина в кровь, очевидно, состоит в перераспределении витамина В₁ в организме в ответ на развитие общей гипоксии. Хотя пока еще рано говорить о возможных механизмах и последствиях обнаруженного явления, полученные результаты, на наш взгляд, открывают новые перспективы исследований роли витамина В₁ в координации и регуляции функций различных органов и систем организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Makarchikov A.F. Vitamin B₁: metabolism and functions // *Biochemistry (Moscow). Suppl. Ser. B: Biomedical Chemistry.* – 2009. – Vol. 3. – P. 116–128.
2. Gangolf M., Czerniecki J., Radermecker M., Detry O., Nisolle M., Jouan C., Martin D., Chantraine F., Lakaye L., Wins P., Grisar T., Bettendorff L. Thiamine status in humans and content of phosphorylated thiamine derivatives in biopsies and cultured cells // *PLoS ONE.* – 2010. – Vol. 5 (10).
3. Практикум по биохимии: учеб. пособие / Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 509 с.
4. Bettendorff L., Peeters M., Jouan C., Wins P., Schoffeniels E. Determination of thiamin and its phosphate esters in cultured neurons and astrocytes using an ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatographic method // *Anal. Biochem.* – 1991. Vol. 198. P. 52–59.

УДК 577.164.111

ПОЛУЧЕНИЕ СУБСТРАТА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ ПУТЕЙ МЕТАБОЛИЗМА АДЕНИЛИРОВАННОГО ТИАМИНТРИФОСФАТА В ТКАНЯХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Макарчиков А.Ф., Кудырко Т.Г., Русина И.М., Гуринович В.А.

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси»

г. Гродно, Республика Беларусь

Наряду с тиаминдифосфатом (ТДФ), выполняющим каталитическую функцию в составе дегидрогеназных комплексов α -кетокислот и транскетолазы, в биологических объектах присутствует ряд других производных витамина В₁ – тиамин, тиаминмонофосфат (ТМФ), тиаминтрифосфат (ТТФ), аденилированные ТДФ и ТТФ, которые не обладают коферментной активностью. Роль этих соединений в процессах жизнедеятельности клетки остается неизвестной. В последнее время появились экспериментальные данные, указывающие на регуляторные функции ТТФ и АТТФ, связанные с процессами адаптации организма [1, 2].

Биосинтез АТТФ осуществляется из ТДФ и АДФ (АТФ) растворимым ферментом, который был выделен из *E. coli*, частично очищен и охарактеризо-

ван [3]. Так как его нет на рынке химической продукции, а для того чтобы установить пути деградации данного соединения в живых организмах, его необходимо, прежде всего, получить в чистом виде. В связи с этим цель настоящей работы состояла в химическом синтезе АТТФ, очистке синтезированного продукта, а также тестировании его в качестве субстрата гидролитических ферментов в клетках кишечной палочки.

Синтез АТТФ проводили из равных количеств АМФ и ТДФ в водном пиридине в присутствии конденсирующего агента – дициклогексилкарбодиимида. Синтезированное соединение очищали от примесей колоночной хроматографией. Эксперименты с бактериальными клетками показали, что фермент, катализирующий гидролиз АТТФ, локализован в мембране *E.coli*. Реакция гидролиза АТТФ протекает при нейтральных значениях pH в присутствии катионов Mg^{2+} , при этом в качестве продуктов образуются ТДФ и АМФ (идентифицированы с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии [4]). Этот фермент, по-видимому, тесно интегрирован в структуру мембраны; поскольку применение различных детергентов позволяет солиобилизовать лишь 10–15% активности.

Таким образом, использование синтезированного нами АТТФ позволило установить, что гидролиз АТТФ осуществляется до ТДФ и АМФ мембранно-связанным ферментом. Это дает возможность при дальнейших исследованиях этого фермента в тканях млекопитающих регистрировать активность, определяя количество ТДФ с помощью метода, основанного на рекомбинации кофермента с апопируватдекарбоксилазой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Макарчиков А.Ф. Тиаминтрифосфат: новый взгляд на некоферментную функцию витамина B_1 . – Минск: Белорусская наука, 2008. – 433 с.
2. Tanaka T., Yamamoto D., Sato T., Tanaka S., Usui K., Manabe M., Aoki Y., Iwashima Y., Saito Y., Mino Y., Deguchi H. Adenosine thiamine triphosphate (AThTP) inhibits poly(ADP-ribose) Polymerase-1 (PARP-1) activity // *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* – 2011. – Vol. 57. – P. 192–196.
3. Makarchikov A.F., Brans A., Bettendorff L. Thiamine diphosphate adenylyl transferase from *E. coli*: functional characterization of the enzyme synthesizing adenosine thiamine triphosphate // *VMC Biochem.* – 2007. – Vol. 8:17.
4. Bettendorff L., Peeters M., Jouan C., Wins P., Schoffeniels E. Determination of thiamin and its phosphate esters in cultured neurons and astrocytes using an ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatographic method // *Anal. Biochem.* – 1991. Vol. 198. P. 52–59.

УДК 636.2:619:618.19-002(476)

МИКРОФЛОРА ВЫМЕНИ КОРОВ, БОЛЬНЫХ МАСТИТОМ

Максимович Н.В., Кузнецов Н.А.

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

Мастит коров вызывается, чаще всего, под воздействием микробного фактора [2, 6]. Инфицирование молочной железы микроорганизмами обнаруживается в 80-ти процентах случаев заболевания [2, 4]. Наиболее частыми воз-