

УДК 577/591.3

ЯЙЦЕКЛЕТКИ СЕРЫХ МОРСКИХ ЕЖЕЙ *Strongylocentrotus intermedius* КАК ТЕСТ-ОБЪЕКТ И ИСТОЧНИК ГИПОМЕТАБОЛИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

© 2022 г. Л.И. Крамарова*, #, Р.Х. Зиганшин**, В.К. Утешев***,
Т.В. Крамарова*, Э.Н. Гахова***.##

*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
ул. Институтская, 3, Пущино Московской области, 142290, Россия

#E-mail: luda_kramarova@rambler.ru

**Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
ул. Миклухо-Маклая, 16/10, Москва, 117997, Россия

***Институт биофизики клетки — обособленное подразделение ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», ул. Институтская, 3, Пущино Московской области, 142290, Россия

##E-mail: gakhova@gmail.com

Поступила в редакцию 06.02.2022 г.

После доработки 14.04.2022 г.

Принята к публикации 19.04.2022 г.

Интенсивный поиск факторов, способных индуцировать и/или регулировать процесс перехода к состоянию временной, пониженной жизнедеятельности различных организмов, ведется в течение многих десятилетий. В работе изучены гипометаболические свойства фракций уксуснокислого экстракта с молекулярной массой ≤ 1 кДа, 1–10 кДа и ≥ 10 кДа, полученных из яйцеклеток серых морских ежей *Strongylocentrotus intermedius* и мозга зимоспящих сусликов *Spermophilus undulatus*. Найдено, что вещества, содержащиеся во фракции с молекулярной массой 1–10 кДа, выделенной из неоплодотворенных яйцеклеток морских ежей, в дозе 0.05 (весовых эквивалентах ткани)/мл морской воды замедляли развитие оплодотворенных яйцеклеток морских ежей на 5–6 стадий через 40 ч после оплодотворения по сравнению с контролем. Аналогичная фракция с молекулярной массой 1–10 кДа, выделенная из мозга сусликов в состоянии спячки, обладала более мощным гипометаболическим эффектом и в дозе 0.05 (весовых эквивалентах ткани)/мл морской воды через 40 ч после оплодотворения яйцеклеток морских ежей замедляла их развитие на 15–16 стадий по сравнению с контролем. Эта же фракция из мозга летне-активных животных или из оплодотворенных яйцеклеток морских ежей не влияла на развитие оплодотворенных яйцеклеток. Мы полагаем, что клетки организмов в состоянии пониженной жизнедеятельности способны синтезировать гипометаболические вещества, которые могут участвовать в индукции и/или регуляции состояния гипобиоза даже у эволюционно далеких видов животных.

Ключевые слова: яйцеклетки морских ежей, гипометаболические факторы, гипобиоз, мозг зимоспящих сусликов.

DOI: 10.31857/S0006302922040081, EDN: ITDGZI

Поиск эндогенных веществ, способных регулировать процессы инициации и вхождения в состояние временной пониженной жизнедеятельности (гипобиоз/гипометаболизм/оцепенение) у различных животных и человека, является одним из приоритетных направлений в области современной медицины и биологии.

Сокращения: взт — весовой эквивалент ткани; МСС (1–10) — фракция экстракта с молекулярной массой 1–10 кДа, полученная из мозга сусликов в состоянии спячки; НЯМЕ (1–10) — фракция с молекулярной массой 1–10 кДа, выделенная из неоплодотворенных яйцеклеток морских ежей.

Внимание ученых многих стран привлекли зимоспящие животные (суслики, сурки, сони, бурндуки, хомяки и др.), которые во время переживания неблагоприятных условий окружающей среды (низкие температуры, отсутствие воды и пищи), способны к избирательному и активно контролируемому подавлению многих физиологических функций организма: угнетению общего метаболизма, снижению частоты сердечных сокращений и температуры тела, изменению активности нейронов [1–5]. В тканях зимоспящих животных во время гибернации резко снижена пролиферативная активность клеток [6–8].

На протяжении последних десятилетий были предприняты попытки выделения и идентификации факторов из различных тканей гетеротермных животных, которые могли бы у гомойотермных и гетеротермных животных индуцировать состояние гипобиоза или вызывать отдельные его проявления. Основанием для многих подобных работ явилась гипотеза Г. Свона [9, 10], предположившего, что явление оцепенения в природе — сложившаяся в процессе эволюции универсальная стратегия регуляции метаболизма для выживания организмов и, следовательно, не должно быть видовой специфичности факторов, вызывающих это состояние. Накопившиеся данные о значительной роли регуляторных пептидов в индукции и поддержании состояния зимнего оцепенения, а также сезонная динамика их содержания в тканях, явились причиной выделения пептидных фракций из тканей животных, находящихся в состоянии гипобиоза [11–16].

Ранее мы сообщали о выделении низкомолекулярной пептидной фракции уксуснокислого экстракта (молекулярная масса 1–10 кДа) кишечника и мозга зимоспящих сусликов различных видов и ее гипометаболическом-гипотермическом действии при введении гомойотермным животным [17, 15]. Факторы, входящие в состав данной фракции, инициировали снижение уровней различных физиологических процессов у организмов, эволюционно значительно удаленных друг от друга. К примеру, вещества, содержащиеся во фракции кишечника зимоспящих сусликов, влияли на клеточный цикл плазмодия истинного миксомицета (*Physarum polycephalum*) и подавляли его двигательную активность [18]. Исследование влияния подобных факторов на работу изолированного сердца лягушки (*Rana temporaria*) выявило их дозозависимое ингибирующее действие вплоть до полной остановки сердца [19].

Было продемонстрировано, что подобные биологически активные факторы синтезируются у рыб в состоянии оцепенения и у генотипически адаптированной якутской лошади [9, 15]. В связи с этим мы провели работу по получению аналогичных факторов из яйцеклеток морских ежей, которые, по нашему предположению, в период перед оплодотворением находятся в состоянии пониженной жизнедеятельности и, возможно, синтезируют гипометаболические факторы.

Основным лимитирующим фактором поиска гипометаболических-гипотермических факторов является необходимость расходования большого количества выделяемых веществ на промежуточных стадиях очистки в тестах на лабораторных животных. Одним из путей преодоления этого

ограничения может быть использование различных клеточных процессов для оценки влияния выделяемых факторов. Оплодотворенные яйцеклетки морских ежей — необычайно удобный тест-объект благодаря хорошей проницаемости мембраны, высокой биологической чувствительности, простоте инкубации зародышей в естественной для них среде и легкости прижизненных наблюдений, поскольку нормальный эмбриогенез зародышей детально описан. Большим преимуществом является тот факт, что с момента оплодотворения начинается формирование и развитие яйцеклетки как организма [20, 21].

В данной работе мы выделили пептидные фракции с молекулярным весом ≤ 1 кДа, 1–10 кДа и ≥ 10 кДа, из оплодотворенных и неоплодотворенных яйцеклеток серых морских ежей и из мозга зимоспящих сусликов, находящихся в состоянии спячки и летне-активном состоянии. Далее было проведено сравнение действия выделенных фракций на развитие оплодотворенных яйцеклеток морских ежей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Источник ткани. Серые морские ежи (*Strongylocentrotus intermedius*) были отловлены в сезон их размножения в заливе Петра Великого (Японское море) на биологической станции «Витязь» ДВНЦ РАН (рис. 1). Неоплодотворенные яйцеклетки и сперму получали путем электрического раздражения животного (постоянный ток, 10 В) и многократной смены морской воды для получения только зрелых яйцеклеток (~95%) (рис. 1б). Полученные яйцеклетки оплодотворяли добавлением нескольких капель разбавленной спермы (рис. 1в). В пределах одного эксперимента использовали один образец спермы с наиболее подвижными сперматозоидами в конечной концентрации ~1:60000. Собранные оплодотворенные яйцеклетки, которые прошли несколько начальных стадий развития, и неоплодотворенные яйцеклетки немедленно замораживали в жидком азоте.

Суслики (*Spermophilus undulatus*) были отловлены в Якутии в августе месяце, перевезены в Институт биофизики клетки РАН (Пушино, Московская область) и помещены в индивидуальные клетки при температуре окружающей среды 15–20°C. Пищу, воду и гнездовой материал животные получали в достаточном количестве. В ноябре месяце все животные были перенесены в темную комнату с температурой 2–4°C. Целый мозг от активных животных забирали в июле, от спящих животных — в январе-феврале (на третий-пя-

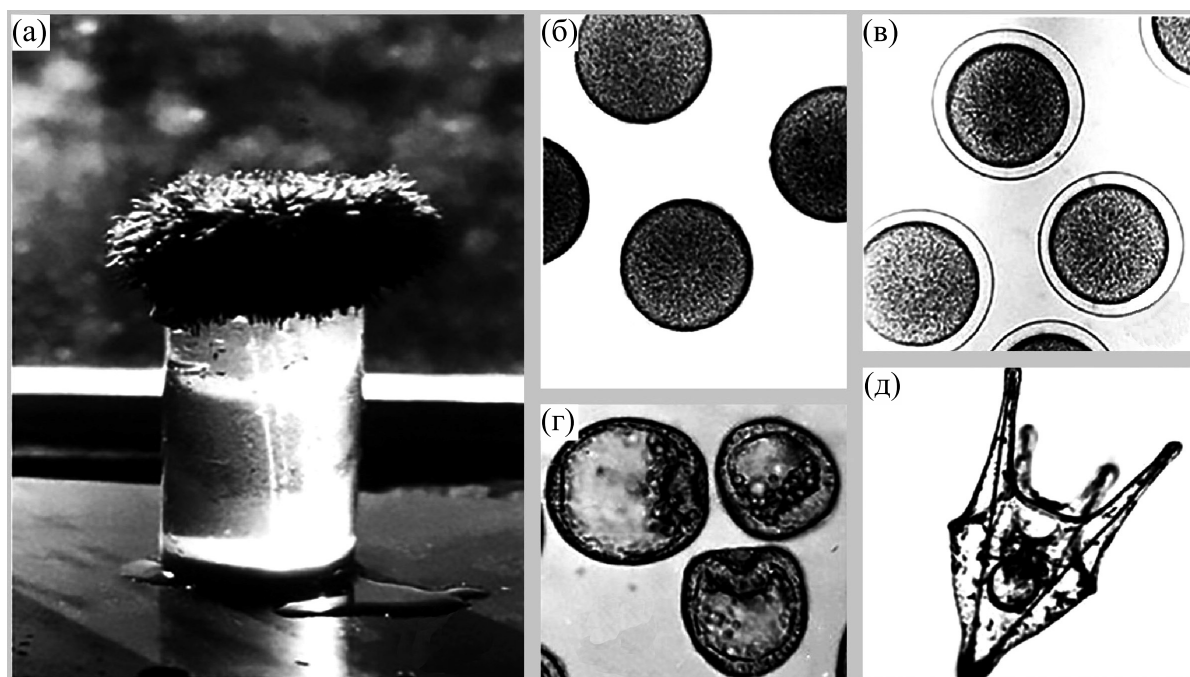


Рис. 1. Морские ежи (*S. intermedius*): (а) – получение яйцеклеток морских ежей; (б) – (д) – стадии развития яйцеклеток: (б) – неоплодотворенные яйцеклетки морских ежей, (в) – оплодотворенные яйцеклетки, (г) – стадия бластулы, (д) – стадия плутеус I.

тый день баута спячки). Животных забивали декапитацией, мозг быстро извлекали и замораживали в жидком азоте. Весь процесс от декапитации до замораживания занимал от 60 до 90 с.

Выделение биологически активных фракций.

Выделение экстрактов и фракций с молекулярной массой ≤ 1 кДа, 1–10 кДа и ≥ 10 кДа проводили по методике, описанной ранее и модифицированной нами [15, 22]. Для удаления липидного материала замороженные яйцеклетки или мозг переносили в ацетон при температуре -10°C . Отношение веса сырого материала к объему ацетона составляло 1 : 10. Биоматериал в ацетоне гомогенизировали при 14000 об/мин в течение одной минуты в гомогенизаторе типа «Polytron». Гомогенат центрифугировали 15 мин при 3000 g и температуре 4°C . Супернатант отбрасывали, к осадку добавляли свежую порцию ацетона, гомогенизировали и центрифугировали при тех же условиях. Для более полной экстракции липидного материала обработку ацетоном проводили трижды. Осадок после центрифугирования лиофильно высушивали и хранили при температуре жидкого азота (-196°C). К ацетоновому порошку добавляли 1 M уксусную кислоту (из расчета 30 мл раствора на 1 г ацетонового порошка), смесь гомогенизировали и затем кипятили на водяной бане 30 мин

при 95°C . Далее смесь охлаждали и центрифугировали 1 ч при 40000 g. Затем супернатант фракционировали ультрафильтрацией на фильтре РМ-10 (Amicon, США), который задерживает вещества с молекулярной массой ≥ 10 кДа. Фильтрат фракционировали на фильтре UM-2 (Amicon, США), который задерживает вещества с молекулярной массой ≥ 1 кДа. Такое последовательное фракционирование уксуснокислого экстракта позволяет получить три фракции, содержащие вещества с различными молекулярными массами: 1) ≥ 10 кДа, 2) 1–10 кДа, 3) ≤ 1 кДа. Используемый метод экстракции биологически активных факторов обеспечивает хороший выход пептидных фракций, относительно свободных от жиров и белков.

Тестирование фракций. Все испытуемые фракции были растворены в фильтрованной морской воде, тщательно размешаны и отцентрифугированы (5 мин, 3000 g при 4°C). Осадок отбрасывали, а надосадочную жидкость в соответствующих дозах добавляли в инкубационную среду (морская вода) с дозированным количеством яйцеклеток (~ 100 яйцеклеток на 1 мл инкубационной среды) немедленно после оплодотворения. Количество добавляемых фракций выражали в весовых эквивалентах ткани (вэт) на мл морской воды. Один весовой эквивалент ткани равен количеству

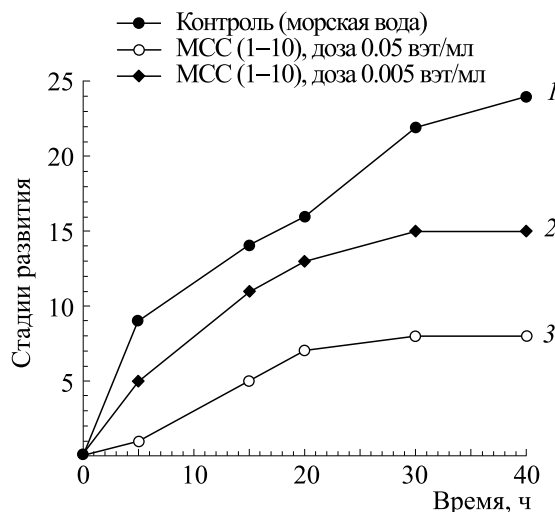


Рис. 2. Развитие оплодотворенных яйцеклеток морских ежей под действием фракции МСС (1-10), в дозах 0.05 вэт/мл морской воды (кривая 3) и 0.005 вэт/мл морской воды (кривая 2). В качестве контроля были взяты оплодотворенные яйцеклетки, развивающиеся в морской воде (кривая 1). На графике представлено развитие оплодотворенных яйцеклеток морских ежей, полученных в одном эксперименте ($n = 7$).

биологически активного материала, выделяемого из одного мозга взрослого животного (сырой вес 5 г) или из равного этому весу яйцеклеток морских ежей. Длительность эксперимента составляла ~40 ч при 18–20°C. Оценку действия фракций проводили непрерывно до 10-й стадии развития яйцеклеток в контроле (стадия бластулы по классификации Бузникова [20]), а затем через каждые 15, 20, 30 и 40 ч. В качестве контроля использовали оплодотворенные яйцеклетки морского ежа, развивающиеся в морской воде. Наблюдения проводили с помощью оптического микроскопа Биолам (ЛОМО, Санкт-Петербург).

Необходимо отметить, что после получения половых продуктов морские ежи возвращались в естественную среду обитания. Для тестирования каждой из фракций были взяты семь самок для получения неоплодотворенных яйцеклеток и семь самцов для получения спермы; каждый эксперимент был проведен в трех повторах.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Гипометаболические факторы из мозга сусликов. Были выделены три фракции с различной молекулярной массой ≤ 1 кДа, 1–10 кДа и ≥ 10 кДа) из уксуснокислых экстрактов мозга сусликов, находившихся в состоянии спячки и летне-активном состоянии, и изучено их влияние на развитие оплодотворенных яйцеклеток морских ежей.

Было показано, что только фракция 1–10 кДа, полученная из мозга сусликов в состоянии спяч-

ки (МСС (1-10)), обладала способностью замедлять развитие зародышей морских ежей (рис. 2). Из рис. 2 видно, что фракция МСС (1-10) в дозе 0.05 вэт/мл морской воды вызывала сильное замедление в развитии оплодотворенных яйцеклеток, которые через 20 ч находились на стадии восьми бластомеров, а через 40 часов — на стадии ранней бластулы. Через 40 ч отставание в развитии зародышей морских ежей составляло 16 стадий относительно контроля. Необходимо отметить, что фракция 1–10 кДа из мозга активных животных в дозе 0.05 вэт/мл морской воды не вызывала замедления развития оплодотворенных яйцеклеток. Данная доза была взята нами на основании предварительных экспериментов на белых мышах, где был продемонстрирован мощный гипометаболический-гипотермический эффект при внутрибрюшинном введении МСС (1-10) в дозе 0.05 вэт/г веса животного.

Фракция МСС (1-10) в дозе 0.005 вэт/мл морской воды (рис. 2, кривая 2) обладала гораздо меньшим ингибирующим эффектом и через 20 ч яйцеклетки находились на стадии поздней бластулы; через 40 ч — на стадии ранней гастролы.

Гипометаболические факторы из яйцеклеток морских ежей. Мы сравнили эффект низкомолекулярных фракций с различной молекулярной массой (1–10 кДа, ≥ 10 кДа и ≤ 1 кДа), выделенных из уксуснокислого экстракта оплодотворенных и неоплодотворенных яйцеклеток серых морских ежей, на развитие оплодотворенных яйцеклеток морских ежей этого же вида (рис. 3).

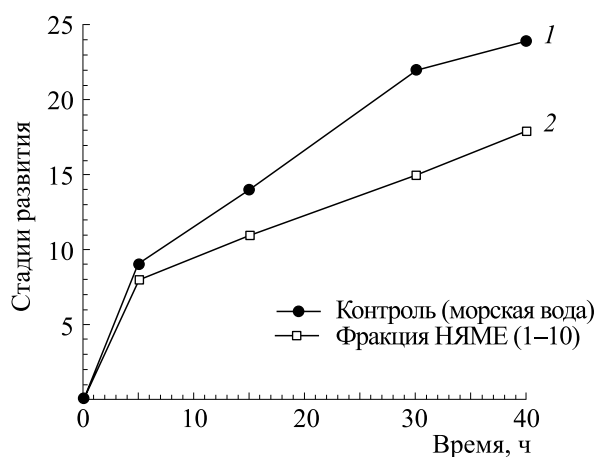


Рис. 3. Развитие оплодотворенных яйцеклеток морских ежей в отсутствие (контроль, кривая 1) и в присутствии фракции НЯМЕ (1-10) в дозе 0.05 вэт/мл морской воды (кривая 2). В качестве контроля использовали оплодотворенные яйцеклетки, развивающиеся в морской воде. На графике представлено развитие оплодотворенных яйцеклеток в одном из семи экспериментов.

Показано, что способностью замедлять развитие оплодотворенных яйцеклеток морских ежей обладала только фракция с молекулярной массой 1–10 кДа, выделенная из неоплодотворенных яйцеклеток (НЯМЕ (1-10)) в дозе 0.05 вэт/мл морской воды (рис. 3). Через 30 ч яйцеклетки находились на стадии ранней гастролы, а через 40 ч — отставание в развитии зародышей морских ежей составляло пять-шесть стадий относительно контроля (морская вода). Данная фракция (НЯМЕ (1-10)) в дозе 0.005 мг/мл морской воды не оказывала достоверного снижения развития яйцеклеток. Фракции ≥ 10 кДа и ≤ 1 кДа, полученные из неоплодотворенных яйцеклеток морских ежей, не обладали замедляющим эффектом. Следует отметить, что фракция с молекулярной массой 1–10 кДа (вэт/мл морской воды), выделенная из оплодотворенных яйцеклеток морских ежей, которые прошли несколько начальных стадий, не замедляла их развитие.

Для исключения возможного токсического эффекта фракций МСС (1-10) и НЯМЕ (1-10) была проверена обратимость их действия в дозе 0.05 вэт/мл морской воды путем многократной смены инкубационной среды. Отмывание от фракций МСС (1-10) и НЯМЕ (1-10) начиналось через 5–6 ч после оплодотворения и добавления фракции. После многократной смены морской воды происходило нормальное дробление яйцеклеток и развитие их до стадии плутеуса, но с отставанием по времени на одну-две стадии от контроля при отмывании от фракции МСС (1-10) и

практически без отставания от контроля при отмывании от фракции НЯМЕ (1-10).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данной работе мы показали, что низкомолекулярная фракция (1–10 кДа), выделенная из двух источников — мозга сусликов, находящихся в состоянии зимней спячки, и неоплодотворенных яйцеклеток морских ежей, способна замедлять развитие зародышей морских ежей. При сравнении кривых развития оплодотворенных яйцеклеток, представленных на рис. 2 и 3, видно, что факторы мозга гибернирующего суслика обладают более мощным гипометаболическим эффектом и соответственно более выраженной способностью замедлять дробление и прохождение последующих стадий развития зародышей по сравнению с факторами, выделенными из неоплодотворенных яйцеклеток морских ежей. Выделяемые факторы нетоксичны, поскольку после удаления данной фракции из инкубационной среды происходило нормальное дробление яйцеклеток с некоторым отставанием от контроля.

Наши ранние эксперименты по влиянию уксуснокислого экстракта мозга гибернирующих сусликов на метаболизм и температуру белых мышечных тканей показали, что вещества, входящие в состав экстракта, вызывали понижение температуры у животных в среднем на 10–12°C при температуре окружающей среды 23°C [23]. Грубые экстракты и компоненты фракции с молекулярной массой 1–10 кДа из мозга и тонкого кишечника сусликов в состоянии спячки оказывали заметное угнетение потребления кислорода этими животными, снижали частоту и амплитуду сокращений сердца лягушки, и влияли на формы покоя первичного сна этого животного [19, 24]. Это согласуется с результатами, полученными в данной работе, и еще раз подтверждает гипотезу о невидоспецифичности гипометаболических факторов.

Было обнаружено, что в тканях сусликов во время гипобиоза резко снижена пролиферативная активность клеток [8]. Исследования с использованием метода проточной флуориметрии показали, что на протяжении зимних месяцев клетки различных органов сусликов (*Citellus suslicus*), а именно роговицы глаза, надпочечников, щитовидной железы и лимфатических узлов, находятся в фазе G_1 , либо в фазе покоя G_0 клеточного цикла [8]. Мы предположили, что ради сохранения энергии яйцеклетки морских ежей до оплодотворения находятся в состоянии гипобиоза и, следовательно, могут содержать гипометаболические вещества.

Исходя из собственных и литературных данных о значительном снижении пролиферации клеток в состоянии гипобиоза животных и замедлении движения клеток по фазам клеточного цикла под действием низкомолекулярных фракций из мозга зимоспящих животных, нам представлялось целесообразным использовать в качестве клеточной тест-системы оплодотворенные яйцеклетки морских ежей. Исследования показали, что применение данного теста в процессе фракционирования и выделения гипометаболических факторов не только удобно для оценки их биологической активности, но и открывает большие перспективы для исследования механизмов действия испытуемых веществ, включая онтогенетические и филогенетические аспекты.

Механизмы действия биологически активных компонентов, синтезирующихся в мозге гибернирующих животных и в неоплодотворенных яйцеклетках морских ежей, на процессы развития морских ежей остаются неисследованными. Мы предполагаем, что они могут быть связаны как с ингибированием специфических механизмов синтеза макромолекул, таких как ДНК, РНК и белков, так и с подавлением процессов клеточного энергообеспечения.

Факт однонаправленности эффектов низкомолекулярных факторов у филогенетически отдаленных организмов, находящихся в состоянии сниженной жизнедеятельности, позволяет предположить существование в природе универсального эволюционно закрепленного фактора(ов) гипобиоза.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке Экспериментального генетического криобанка Института биофизики клетки РАН (Пушино, Московская область).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнялась в рамках государственных научно-исследовательских заданий № 075-01027-22-00 и ФИЦ № 075-01512-22-00.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. C. Kayser, *The Physiology of Natural Hibernation* (Pergamon Press, N.-Y., 1961).
2. C. Lyman, J. Willis, A. Malan, and L. Wang, *Hibernation and torpor in mammals and birds* (Academic Press, N. Y., 1982).
3. Н. И. Калабухов, *Спячка млекопитающих* (Наука, М., 1985).
4. L. C. H. Wang, in *Advances in comparative and environmental physiology* (Springer-Verlag, Berlin, 1988), pp. 1–45.
5. Л. И. Крамарова, Р. Х. Зиганшин, и Э. Н. Гахова, *Биоорг. химия*, **35**, 597 (2009).
6. S. Adelstein, C. Lyman, R. O. Brein, and S. Ito, in *Mammalian hibernation III* (Oliver and Lloyd, Edinburgh, 1967), pp. 398–408.
7. В. М. Юнкер, Г. В. Алексеева, А. Ф. Никифоров и А. П. Селезнева, *Зимняя спячка и сезонные ритмы физиологических функций* (Наука, Новосибирск, 1971).
8. S. G. Kolaeva, L. I. Kramarova, E. N. Iliasova, and F. E. Iliarov, *Intern. Rev. Cytol.*, **66**, 147 (1980).
9. H. Swan, D. Jenkins, and K. Knox, *Nature*, **217**, 671 (1968).
10. H. Swan and C. Schatte, *Science*, **195**, 84 (1977).
11. T. L. Stanton, A. L. Beckman, and A. N. Winikur, *Reg. Pept.* **3**, 135 (1982).
12. L. I. Kramarova, S. G. Kolaeva, V. V. Rozanetz, and R. C. Yuchananov, *Comp. Bioch. Physiol.*, **74**, 31 (1983).
13. L. I. Kramarova, Y. Cui, T. F. Lee, and L. C. H. Wang, *Life Sci.*, **48**, 175 (1991).
14. L. C. H. Wang, in *Life in the Cold* (Westview Press, Boulder, USA, 1993), pp. 297–303.
15. Р. Х. Зиганшин, В. И. Свиряев, Б. В. Васильковский и др., *Биоорг. химия*, **20**, 899 (1994).
16. Л. И. Крамарова, Р. Х. Зиганшин и Э. Н. Гахова, *Биоорг. химия*, **35**, 597 (2009).
17. L. I. Kramarova, S. G. Kolaeva, S. G. Bronnikov, et al., *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **71** (3), 293 (1993).
18. М. А. Белявский, Н. Б. Матвеева и С. Е. Бейлина, в кн. *Механизмы зимней спячки* (ИЦБИ, Пушино, 1987), сс. 133–137.
19. Г. С. Сухова, Д. А. Игнатьев, А. К. Ахременко и др., *Журн. эволюц. биохимии и физиологии*, **26**, 623 (1990).
20. Г. А. Бузников и В. К. Подмарев, в кн. *Объекты биологии развития* (Наука, М., 1975), сс. 188–216.

21. N. Kobayashi, in *Ecotoxicological Testing for the Marine Environment* (State Univ. Ghent and Inst. Mar. Scient. Res., Belgium, 1984), pp. 341–405.
22. D. Amorese, H. Swan, and J. Bamburg, *Proc. Natl. Aca. Sci. USA*, **79**, 6375 (1982).
23. Г. Р. Иваницкий, С. Г. Колаева, Ю. Ф. Пастухов и др., *ДАН СССР*, **267** (4), 978 (1982).
24. И. Г. Карманова, С. Г. Колаева, Л. И. Крамарова и др., *Криобиология и криомедицина*, **15**, 36 (1984).

Eggs of Gray Sea Urchins *Strongylocentrotus intermedius* as a Test-Object and a Source of Hypometabolic Factors

LI. Kramarova*, R.Ch. Ziganshin**, V.K. Uteshev***, T.V. Kramarova*, and E.N. Gakhova***

**Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

***Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow 117997 Russia*

****Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

Over very long time periods, an intensive search has been performed to find factors that can induce and/or regulate the transition to a temporary state of decreased physiological activity in different animals. This paper represents a study that is focused on hypometabolism of the fractions of the acetic acid extract with molecular mass of ≤ 1 kDa, 1–10 kDa and ≥ 10 kDa, obtained from eggs of gray sea urchins *Strongylocentrotus intermedius*, and from brain tissue of ground squirrels *Spermophilus undulatus* that hibernate during winter. It was found that components of the low-molecular weight fraction (1–10 kDa) isolated from the unfertilized eggs of sea urchins at a dose of 0.05 wet/ml of sea water are able to delay the development of fertilized sea urchins by 5–6 stages 40 hours after fertilization as compared to control. The similar low (1–10 kDa) molecular weight fraction isolated from brain tissue of ground squirrels during torpor demonstrated more pronounced hypometabolic effect and at a dose of 0.05 wet/ml of sea water 40 hours after egg fertilization in the sea urchins this fraction delayed the development of fertilized sea urchins by 15–16 stages as compared to control. A similar fraction, isolated from the brain of summer-active animals or from fertilized eggs of sea urchins, had no effect on the development of fertilized eggs. It is suggested that cells and organisms that are in a state of decreased physiological activity are able to synthesize substances that can participate in the induction and/or regulation of a state of cell hypobiosis even in evolutionary distant animal species.

Keywords: eggs of sea urchins, hypometabolic factors, hypobiosis, brains of ground squirrels that hibernate through the winter