

Е. Н. Чернова, Я. В. Русских, З. А. Жаковская

ТОКСИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ СИНЕ-ЗЕЛЁНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ И МЕТОДЫ ИХ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

ФГБУН Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН, Российская Федерация, 197110, Санкт-Петербург, ул. Корпусная, 18

В обзоре рассмотрены различные структурные варианты цианотоксинов, их физические и химические свойства, механизмы токсического воздействия, методы определения в объектах окружающей среды. Цианобактерии продуцируют вторичные метаболиты, которые могут быть высокотоксичными для людей и животных. Начиная с 2000-х гг. цианобактериальные цветения часто регистрируются в России. В большинстве исследованных водных объектов России было отмечено доминирование более 20 потенциально токсичных цианобактериальных видов родов *Aphanizomenon*, *Dolichospermum*, *Planktothrix*, *Microcystis*. Для пресноводных водоёмов наиболее опасны высокотоксичные нейротоксины (анатоксин-а, анатоксин-а(s) и сакситоксины) и широко распространённые микроцистины. Библиогр. 186 назв. Ил. 4. Табл. 3.

Ключевые слова: цианотоксины, анатоксин-а, анатоксин-а(s), сакситоксин, микроцистины, объекты окружающей среды, методы детектирования.

Для цитирования: Чернова Е. Н., Русских Я. В., Жаковская З. А. Токсичные метаболиты сине-зелёных водорослей и методы их определения // Вестник СПбГУ. Физика и химия. 2017. Т. 4 (62). Вып. 4. С. 440–473. <https://doi.org/10.21638/11701/spbu04.2017.408>

E. N. Chernova, Ia. V. Russkikh, Z. A. Zhakovskaya

TOXIC METABOLITES OF BLUE-GREEN ALGAE AND DETECTION METHODS

St. Petersburg scientific research centre for ecological safety Russian Academy of Sciences, 18, ul. Korpusnaya, St. Petersburg, 197110, Russian Federation

The review considers a variety of structural variants of cyanotoxins, their physical and chemical properties, the mechanisms of toxic effects, methods of determination in environmental objects. Cyanobacteria produce secondary metabolites; which could be highly toxic to humans and animals. Since the 2000s cyanobacterial blooms have been commonly reported in Russia. The domination of more than 20 potentially toxic cyanobacterial species of genera *Aphanizomenon*, *Dolichospermum*, *Planktothrix*, *Microcystis* was documented in most of examined Russian water bodies. For freshwater reservoirs, highly toxic neurotoxins (anatoxin-a, anatoxin-a(s) and saxitoxins) and widespread microcystins are the most dangerous. Refs 186. Figs 4. Tables 3.

Keywords: cyanotoxins, anatoxin-a, anatoxin-a(s), saxitoxin, microcystins, environmental objects, detection methods.

For citation: Chernova E. N., Russkikh Ia. V., Zhakovskaya Z. A. Toxic metabolites of blue-green algae and detection methods. *Vestnik SPbSU. Physics and Chemistry*. 2017. Vol. 4 (62), iss. 4. P. 440–473. <https://doi.org/10.21638/11701/spbu04.2017.408>

1. Сине-зелёные водоросли в окружающей среде. Токсичные метаболиты сине-зелёных водорослей — цианотоксины. Сине-зелёные водоросли, или цианобактерии — древнейшие организмы, способствовавшие образованию атмосферы на планете [1]. Благодаря способности к фотосинтезу и связыванию азота из атмосферы и окружающей среды их относят к растениям, а именно к сине-зелёным водорослям.

© Санкт-Петербургский государственный университет, 2017

Однако исходя из строения клетки, схожего с бактериальной, наличия в ней рибосом, а также муреиновой клеточной стенки их также причисляют к прокариотам, имеющим грамотрицательную характеристику [2]. Цианобактерии характеризуются высокой способностью к адаптации, распространены практически повсеместно, могут находиться во всех экосистемах от наземных до водных сред обитания, в том числе и в экстремальных условиях (горячие источники, гиперсолёные среды и ледники) [3, 4]. На сегодняшний день установлено, что 46 видов цианобактерий способны продуцировать токсичные метаболиты (цианотоксины) [5], которые представляют опасность для здоровья людей и животных [6].

Известно, что массовому развитию цианобактерий («цветению») способствует эвтрофирование водоёмов [7]. В настоящее время цианобактериальное «цветение» становится всё более интенсивным и широко распространённым даже в ранее «не цветших» водоёмах. Повышение среднегодовых температур (изменение планетарного климата) и высокая концентрация биогенных веществ в водоёмах аддитивно воздействуют на увеличение темпов роста именно токсигенных видов цианопркариот [8]. Периоды увеличения биомассы цианобактерий заканчиваются массовым отмиранием клеток, лизисом (разрушением) клеточной стенки и последующим выбросом внутриклеточных цианотоксинов в воду.

В организм человека токсины попадают в результате употребления загрязнённой воды или морепродуктов, а также при рекреационном использовании «цветущих» природных водоёмов [9, 10]. Степень поражения при отравлении цианотоксинами в зависимости от полученной дозы может быть от лёгкой до летальной; симптомы очень разнообразны и могут проявляться в виде гастроэнтеритов, абдоминальных болей, поражений печени и почек, воспаления горла, аллергических и дерматологических проявлений, судорог, паралича, удушья [6].

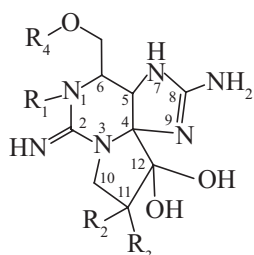
Цианобактериальное «цветение» водоёмов признано ООН одной из актуальных проблем современного мира [11]. В некоторых странах подобные токсичные «цветения» водоёмов рассматривают в качестве национальной проблемы: создаются специальные центры для их изучения и контроля, разрабатываются различные меры по предотвращению «цветений» и очищению постоянно «цветущих» водоёмов [12–15]. В последние десятилетия цианобактериальные «цветения» всё чаще регистрируются на территории Российской Федерации, в водоёмах обнаружено более 20 потенциально токсичных видов цианобактерий [16]. Экстремальные последствия «цветения» возникают в водоёмах южных и центральных регионов России. Недавним примером этому служит чрезвычайная ситуация, сложившаяся в Цимлянском водохранилище в октябре 2009 г., когда массовые скопления цианобактерий привели к засорению водозаборных сооружений и прекращению подачи воды жителям г. Волгодонска [17]. Регистрируются регулярные случаи массовой гибели рыб в Азовском море [18], Куршской и Вислинской лагунах Балтийского моря [19]. Однако данные по определению содержания цианотоксинов в водоёмах малочисленны и, как правило, носят отрывочный характер, что не позволяет реально оценить степень опасности цианобактериального «цветения» водоёмов на территории России. Таким образом, определение содержания цианобактериальных токсинов в водоёмах Российской Федерации представляет исключительную важность.

Цианотоксины подразделяют по способу воздействия на живые организмы на несколько групп, из которых для пресноводных водоёмов наиболее актуальны нейротоксины (сакситоксины, анатоксины) из-за высокой токсичности и гепатотоксины (микроцистины, MCYST) вследствие их высокой стабильности и распространённости [9].

2. Цианобактериальные токсины. 2.1. Нейротоксичные метаболиты.

Среди нейротоксичных анатоксинов выделяют сакситоксины, анатоксин-а и анатоксин-а(s).

2.1.1. Сакситоксины. Сакситоксины, также известные как «паралитические яды моллюсков» (paralytic shellfish toxins, PSTs), являются одними из известных сильнодействующих природных токсинов. Их также называют «фактором быстрой смерти», поскольку смерть при употреблении летальной дозы наступает в течение 15 мин — 12 ч [20, 21]. Благодаря экстремально низкому значению LD_{50} сакситоксины рассматривались в качестве химического оружия [22]. В настоящее время они включены в список 1 (химикаты, представляющие собой высокий риск) Конвенции о запрещении химического оружия [21].



Первоначально считалось, что продуцентами этих токсинов являются только морские динофитовые водоросли родов *Alexandrium*, *Gymnodinium* и *Pyrodinium* [23], «цветение» которых приводит к массовым заморам рыбы, отравлениям диких животных и домашнего скота [11]. В настоящее время установлено, что некоторые роды пресноводных сине-зелёных водорослей — *Aphanizomenon*, *Dolichospermum*, *Cylindrospermopsis*, *Lyngbya*, *Scytonema*, *Planktothrix* и *Raphidiopsis* — также могут синтезировать сакситоксины [11, 20, 23]. В связи со способностью аккумулироваться в водных организмах (например, в моллюсках *Gonyaulax*) [24] сакситоксины могут являться причиной случаев массового отравления при употреблении в пищу заражённых морепродуктов и воды [23, 25, 26].

К сакситоксинам причисляют более 57 соединений, относящихся к триалкилтетрагидропуринам.

Заместители R1–R4 могут быть представлены гидроксильными, карбоксамидными и сульфатными группами. Варианты расположения заместителей в структуре сакситоксинов приведены в табл. 1 [11, 23].

Традиционно сакситоксины подразделяют на три основные группы:

- 1) карбаматные (сакситоксин, неосакситоксин и гониатоксины 1-4 (GTX 1-4));
- 2) сульфокарбамоильные (B 1-2, C 1-4);
- 3) декарбамоильные (dcSTX, dc-neoSTX, и dc-GTX1-4).

Эти группы различаются по токсичности: карбаматные — наиболее токсичны, карбамоильные — менее токсичны, сульфокарбамоильные — в десятки раз менее токсичны, согласно данным токсикологических исследований на мышах при внутрибрюшинном введении [11, 23].

В основном сакситоксины — водорастворимые соединения. Их стабильность зависит от молекулярной структуры каждого из представителей сакситоксинов и pH среды [27]. Большинство сакситоксинов стабильны в кислых растворах, а в щелочных быстро разлагаются даже при комнатной температуре. На стабильность соединений также влияет присутствие и расположение сульфатной группы, вид заместителя R1 (гидроксильная группа или протон) [28, 29]. В структуре всех представителей группы сакситоксинов присутствуют две гуанидиновые группировки. Исследования, проведённые методом ядерного магнитного резонанса, показали, что гуанидиновый заместитель, принадлежащий пиримидиновому циклу, имеет обычное для такой группировки значение $pK_{BH^+} = 11,3$. У гуанидинового заместителя имидазольного цикла $pK_{BH^+} = 8,3$; это значение является аномально низким, что может быть связано с влиянием соседних атомов азота [30, 31]. Согласно данным кристаллографического рентгеновского

**Некоторые наиболее распространённые модификации
структуры соединений группы сакситоксинов**

Соединения	R1	R2	R3	R4
Сакситоксин (STX)	H	H	H	CONH ₂
Неосакситоксин (неоSTX)	OH	H	H	CONH ₂
Гониатоксин 1 (GTX 1)	OH	OSO ₃ ⁻	H	CONH ₂
Гониатоксин 2 (GTX 2)	H	OSO ₃ ⁻	H	CONH ₂
Гониатоксин 3 (GTX 3)	H	H	OSO ₃ ⁻	CONH ₂
Гониатоксин 4 (GTX 4)	OH	H	OSO ₃ ⁻	CONH ₂
Декарбамоильный гониатоксин 1 (dcGTX 1)	OH	OSO ₃ ⁻	H	H
Декарбамоильный гониатоксин 2 (dcGTX 2)	H	OSO ₃ ⁻	H	H
Декарбамоильный гониатоксин 3 (dcGTX 3)	H	H	OSO ₃ ⁻	H
Декарбамоильный гониатоксин 4 (dcGTX 4)	OH	H	OSO ₃ ⁻	H
Гониатоксин 5 (GTX 5) B1	H	H	H	CONHSO ₃ ⁻
Гониатоксин 6 (GTX 6) B2	OH	H	H	CONHSO ₃ ⁻
C1	H	OSO ₃ ⁻	H	CONHSO ₃ ⁻
C2	H	H	OSO ₃ ⁻	CONHSO ₃ ⁻
C3	OH	OSO ₃ ⁻	H	CONHSO ₃ ⁻
C4	OH	H	OSO ₃ ⁻	CONHSO ₃ ⁻

исследования, связь N8–C9 длиннее других двух связей [32]. В нейтральных растворах наиболее вероятно присутствие сакситоксина в форме двухзарядного иона с расположением протонов на гуанидиновых группировках.

Данные по определению токсичности аналогов сакситоксинов очень обширны. При использовании метода биотестирования проводится оценка общей токсичности образца. Однако оценка токсичности разными исследовательскими группами часто приводится в различных единицах. Получаемые значения в некоторых случаях существенно различаются в зависимости от пути поступления токсина в организм.

Инструментальные аналитические подходы, включающие жидкостную хроматографию с ультрафиолетовым или флуоресцентным детектированием или масс-спектрометрическое обнаружение, позволяют количественно определять структурные варианты токсинов с использованием калибровочных зависимостей, построенных для растворов сертифицированных стандартных соединений. Однако не все стандартные соединения коммерчески доступны в связи с их высокой токсичностью и большим разнообразием структурных вариантов. Количественного определения суммарного содержания структурных вариантов токсинов недостаточно для мониторинга и принятия регулирующих решений, поскольку разные аналоги могут иметь различные токсические свойства. Установлено, что не менее 18 структурных аналогов обладают токсичностью [23], а максимальную токсичность среди всех структурных вариантов проявляет сакситоксин [33]. С учётом того, что в природных средах варианты сакситоксинов находятся в различных сочетаниях, для оценки токсичности применяют международные системы коэффициентов (факторов) эквивалентной токсичности (ТЕФ), основанные на определении отношения токсичности каждого из аналогов к токсичности наиболее токсичного соединения группы — сакситоксина. На основании данных исследований (опыты на нейронных клетках и биотестирование на мышах) с использованием сертифицированных аналогов сакситоксинов Европейская организация по безопасности продовольствия (EFSA) предложила значения эквивалентов токсичности (ТЕФ) для ряда сакситоксинов [34]. Позже полученные значения были пересчитаны на основе данных, полученных

при пероральном введении токсинов. В большинстве случаев установленные значения были аналогичны результатам, полученным при помощи внутривентриального введения, однако для некоторых структурных аналогов (например, dcSTX и dcNeoSTX) наблюдались существенные различия [35]. Значения факторов эквивалентной токсичности соединений — аналогов сакситоксинов, установленные при использовании различных методов введения токсинов мышам, приведены в табл. 2 [35].

Таблица 2

**Значения эквивалентов токсичности (TEF) соединений,
относящихся к сакситоксинам, установленные
при использовании различных методов введения токсинов мышам**

Соединение	Внутрибрюшинное (Oshima, 1995)	По данным LD ₅₀ , в/б	По данным LD ₅₀ , введение через зонд	По данным EFSA
Сакситоксин (STX)	1,00	1,00	1,00	1,00
Неосакситоксин (neoSTX)	0,92	3,12	1,70	1,00
Гониатоксин 1 (GTX 1)	0,99			1,00
Гониатоксин 2 (GTX 2)	0,36			0,40
Гониатоксин 3 (GTX 3)	0,64			0,60
Гониатоксин 4 (GTX 4)	0,73			0,70
Гониатоксин 5 (GTX 5)	0,06	0,22	0,06	0,10
Гониатоксин 6 (GTX 6)		0,12	0,04	0,10
Декарбамоильный сакситоксин (dcSTX)	0,51	0,79	0,46	1,00
Декарбамоильный неосакситоксин (dcNeoSTX)		0,06	0,22	0,40
Декарбамоильный гониатоксин 2 (dcGTX 2)	0,15			0,20
Декарбамоильный гониатоксин 3 (dcGTX 3)	0,38			0,40
C1	0,01			0,01
C2	0,10			0,10
C3	0,01			0,01
C4	0,06			0,10

В настоящее время по нормативам ЕС введены только ограничения содержания сакситоксинов в мясе моллюсков, предельно допустимая концентрация (ПДК) составляет 800 мкг STX/кг. Международные стандарты их ПДК в воде не разработаны. Однако в некоторых странах, где регулярно отмечаются цианобактериальные «цветения» водоёмов, сопровождающиеся выделением нейротоксинов, введены региональные нормативы для питьевой воды. Так, в Австралии и Бразилии ПДК составляет 3 мкг SXT/л питьевой воды [36].

Основной токсический эффект сакситоксинов проявляется в блокировании натриевых каналов при связывании с рецепторами вблизи наружной поверхности клетки, что препятствует формированию потенциала действия возбудимых мембран, вследствие чего нарушается проведение нервных импульсов по нейронам. Связывание токсинов с белками ионных каналов обратимо. *In vitro* яды могут быть удалены с поверхности возбудимой мембраны путём простого отмывания биопрепарата. В случае нелетальной дозы соединения выводятся через почки, и пострадавшие восстанавливаются в течение

нескольких дней до полного исчезновения симптомов. В малых дозах действие сакситоксинов сходно с действием местных анестетиков [11].

Предложено несколько моделей взаимодействия молекулы сакситоксина и натриевого канала. Одной из первых была модель ковалентного связывания, предполагающая наличие химической связи между двумя геминальными гидроксильными группами у атома С в положении 12 в структуре сакситоксина, и нуклеофильными группами (ОН, NH₂, SH) на поверхности белка, образующего натриевый канал. Модель ковалентной связи могла объяснить прочное связывание с токсином [37].

В качестве альтернативы была предложена трёхцентровая модель связывания (three-point binding model), которая осуществляется посредством водородных связей с вышеупомянутыми геминальными группами на атоме С¹² и ион-парным взаимодействием гуанидиновой группы и анионного сайта на наружной поверхности мембраны [37]. Трёхцентровая модель подтверждается фактом сохранения активности у дигидросакситоксинов (сакситоксинолов или 11-деоксисакситоксинов), которые не могут образовывать ковалентную связь [38, 39]. Другими словами, способность образовывать ковалентную связь (согласно модели ковалентного связывания) не является необходимой для взаимодействия с натриевым каналом.

При использовании метода точечных мутаций было установлено, что поочерёдная замена аспарагиновой аминокислоты в положении 384 и 1717 на аспарагин и глутаминовой аминокислоты в положениях 387, 942 и 945 на глутамин приводила к снижению токсического действия [40–43].

Согласно этим данным, гуанидиновые заместители в циклах пиримидина и имидазола и атомы азота имидазольного кольца связываются с карбоксильными группами натриевого канала. Таким образом, токсин оказывается в «кармане» в окружении нескольких карбоксильных групп, как показано на рис. 1 [43].

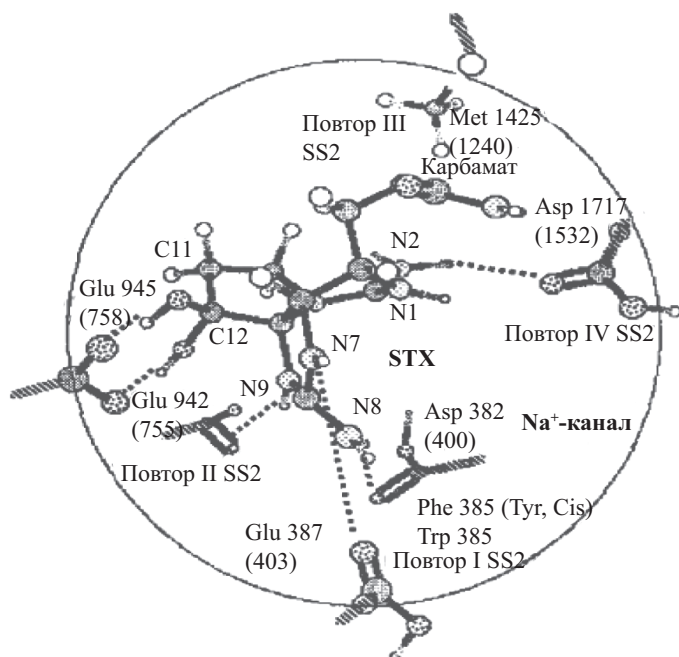
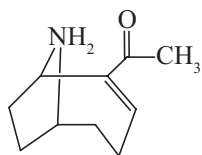


Рис. 1. Схема взаимодействия сакситоксина и аминокислот натриевого канала

2.1.2. *Анатоксин-а*. Анатоксин-а (AN-а) — нейротоксичный алкалоид — первый цианотоксин, который был химически и функционально определён в 1972 г. [44]. Впервые выделен из вида *Dolichospermum (Anabaena) flos-aquae* [44]. Позднее установлено его продуцирование различными видами родов *Dolichospermum (Anabaena)*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermum*, *Oscillatoria*, *Planktothrix* и *Raphid-iopsis* [45–48]. Зарегистрировано присутствие AN-а в водоёмах Европы, Северной Америки и других стран [49, 50]. Анатоксин-а представляет собой бициклический вторичный амин, по систематической номенклатуре — 2-ацетил-9-азабицикло-[4.2.1]нон-2-ен [44].



AN-а является агонистом ацетилхолина и специфическим блокатором никотиновых ацетилхолиновых рецепторов [49, 51]. Причём связывание рецептора с анатоксином-а является необратимым, поскольку гидролиз аддукта с помощью ацетилхолинэстеразы не происходит. Таким образом, н-холинрецептор остаётся заблокированным в открытом положении, что приводит к деполяризации мембраны и в дальнейшем — к десенситизации рецептора. В таком состоянии н-холинрецептор не пропускает катионы, что приводит к нарушению нервно-мышечной передачи [52]. Воздействие AN-а на дыхательную систему приводит к недостатку подачи кислорода к мозгу, последующим судорогам и смерти от удушья. AN-а — примерно в 20 раз более мощный никотиновый агонист по сравнению с ацетилхолином [49]. В работах [53, 54] было установлено, что при связывании токсина с н-холинрецептором значительную роль играет конформация боковой цепи.

Анатоксин-а легко фотодegradурует до нетоксичных продуктов под действием солнечного света и при высоких значениях pH [49]. В эвтрофных озёрах период полураспада AN-а составляет обычно менее 24 ч [9]. Быстрая деградация AN-а представляет проблемы при определении его содержания. Согласно работе [49], образцы с вероятным содержанием AN-а следует защищать от света, подкислить и хранить при -20°C для предотвращения разложения.

Анатоксин-а, как и сакситоксин, является ядом быстрого действия и «фактором очень быстрой смерти» [49]. Случаи отравления, вызванные нейротоксическими «цветениями», отмечены в работах начиная с 1930-х гг. [46, 55–58]. Смерть животного может произойти в течение времени от нескольких минут до нескольких часов после воздействия в зависимости от размера животного и количества потреблённого токсина. LD₅₀ (мышь, внутрибрюшинно) составляет 200 мкг/кг [44]. Симптомами отравления являются паралич, мышечные судороги, удушье, конвульсии. Тем не менее приём внутрь сублетальной дозы AN-а не оставляет никаких хронических последствий, признаков повреждения органов, а сам токсин быстро разлагается [49, 50].

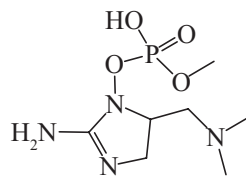
В связи с тем что имеющиеся данные свидетельствуют о незначительных проблемах со здоровьем, вызванных хронической токсичностью (по сравнению с острой токсичностью) [9], ВОЗ в 1999 г. сделала заключение, что данных о токсичности AN-а недостаточно для установления безопасного уровня потребления.

Однако некоторые страны разрабатывают собственные нормативы. Например, Департамент здравоохранения штата Вашингтон рекомендует допустимое содержание в воде, равное 1 мкг/л, на основании результатов, полученных в работе [59]. Такое же значение установили в Новой Зеландии [60] и штате Орегон, США [61].

В связи с использованием анатоксина-а в фармакологии для исследования заболеваний, вызванных недостатком ацетилхолина, были разработаны различные схемы его органического синтеза [62].

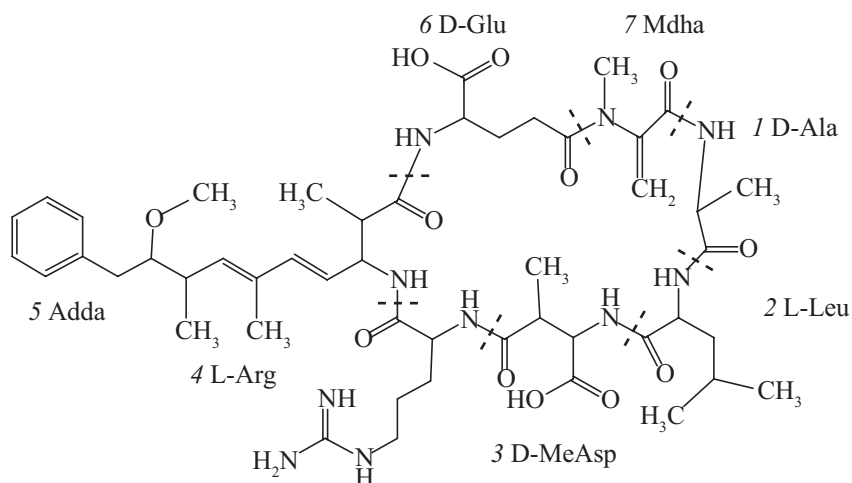
2.1.3 *Анатоксин-а(s)*. Анатоксин-а(s) (AN-а(s)) — эфир фосфорной кислоты и циклического *N*-гидроксигуанина, синтезируемый штаммами *Dolichospermum (Anabaena) flos-aque* (NRC 525-17 [63], *D. lemmermannii* [64], *D. spiroides*. [65].

Механизм действия анатоксина-а(s) подобен действию органофосфатных и карбаматных инсектицидов типа параксона [66] и проявляется в необратимом ингибировании ацетилхолинэстеразы. Накопление ацетилхолина приводит к нарушению проведения нервных импульсов и к параличу. Ацетилхолин (ACh) осуществляет связывание мембранных рецепторов, что приводит к непрерывной стимуляции мышц. Когда поражаются респираторные мышцы, смерть возникает в результате респираторной недостаточности и гипоксии мозга [67, 68]. При отравлении у мышей наблюдались слезотечение, вязкое слюноотделение, судороги и респираторный дистресс. LD₅₀ (мыши, внутривенно) составляет 20–40 мкг/кг [69].



Анатоксин-а(s) нестабилен в щелочных средах [67]. Данные о нахождении анатоксина-а(s) в объектах окружающей среды малочисленны [64, 65, 70]. С его присутствием связывают смертельные случаи отравления домашних собак и водоплавающих птиц, наблюдавшиеся в Канаде, и диких птиц — в Германии [64, 67, 71]. Сообщения об определении токсина в объектах окружающей среды основаны на результатах токсикологических тестов на животных и иммуноферментных методах анализа на ингибирование ацетилхолинэстеразы. Однако эти методы не являются чувствительными и селективными для однозначного определения данного токсина [64].

2.2. *Гепатотоксичные метаболиты*. В пресноводных водоёмах микроцистины (MCYST) являются наиболее распространёнными токсичными метаболитами цианобактерий. Продуцентами MCYST в пресноводных водоёмах являются виды родов *Microcystis*, *Planktothrix*, *Dolichospermum*, *Phormidium* и *Anabaenopsis* [72]. К группе MCYST относят более 80 циклических гептапептидов с молекулярной массой в интервале 900–1150 Да [73].



Общая структура MCYST содержит цикл из семи аминокислот, пять из которых постоянны в составе соединений этого класса, включая характерную Adda-кислоту (3-амино-9-метокси-2,6,8-триметил-10-фенилдека-4,6-диеновая кислота), а две L-аминокислоты в положениях 2 и 4 — вариабельны. Общепринятые аббревиатуры

вариабельных аминокислот указываются в качестве суффикса в названии MCYST. Так, в структуре наиболее известного и токсичного представителя MCYST — MCYST-LR (молекулярная масса 994), представленной ниже, присутствуют лейцин (Leu = L) в положении 2 и аргинин (Arg = R) в положении 4.

Для установленных структур MCYST на рис. 2 схематически представлено расположение возможных вариантов аминокислотных остатков в каждом положении цикла [74].

Положение в цикле						
1	2	3	4	5	6	7
Ala	Leu	mAsp	Ala	Adda	Glu	MDha
Leu	Ala	Asp	Aba	DMadda	mGlu	MDhb
Ser	Arg		Arg	ADMadda		Mser
	Glu		Glu			Dhb
	H4Tyr		Har			
	Hil		Met			
	Hph		Phe			
	Hty		Tyr			
	Phe		Val			
	Tyr					
	Tyr					

Микроцистины

Рис. 2. Схематическая структура MCYST

В структуре других представителей MCYST могут содержаться аминокислотные остатки следующих L-аминокислот: тирозин (Y), гомотирозин (Hty), фенилаланин (F), метионин (M), триптофан (W), аланин (A) или гомоаргинин (Har) [74]. Варианты аминокислотной последовательности в структуре MCYST и нодуларинов представлены на рис. 2 [75]. В десяти из установленных структур встречаются модификации в Adda-кислоте в положении 5: либо деметилирование по метоксигруппе (DMAdda), либо её замена на ацетоксигруппу ($-OC-OCH_3$) (ADMAdda). Другие модификации в структуре MCYST могут быть вызваны деметилированием метилдегидробутирина (methyldehydrobutyrine, MDha) в положении 7 с образованием дегидробутирина (dehydrobutyrine, Dhb), деметилированием N-метилсерина (methylserine, MeSer) в положении 3 с образованием серина (Ser). Модификации в положениях 1, 3, 5, 6 и 7 отражаются в названии MCYST путём добавления стандартной аббревиатуры замещающей аминокислоты с указанием номера её положения в кольце, например: [D-Asp³]MCYST-LR [76].

MCYST — химически стабильные соединения, практически не подвергающиеся гидролизу, окислению [77] и не разрушающиеся даже при кипячении [78]. После выделения из клетки могут находиться в воде водоёмов не разлагаясь до нескольких недель [79, 80], аккумулироваться в тканях различных организмов и передаваться по пищевым цепям [11, 81]. В связи с этим систематическое воздействие даже низких концентраций MCYST (порядка десятков и сотен нанограммов на литр) как в случае питьевого, так и рекреационного использования вод представляет значительную опасность [82, 83].

Кислотно-основные свойства MCYST-LR изучены значительно лучше по сравнению с другими структурными вариантами [84]. В структуре MCYST-LR присутствуют две карбоксильные группы и одна аминогруппа. Значения рКа составляют для карбоксильных групп 2,09 и 2,19, для аминной — $pK_{BH^+} = 12,48$ [85]. В природных водоёмах MCYST находятся в виде цвиттер-иона. Усреднённое значение рКа для MCYST-LR составляет 3,3 [85].

Микроцистины являются гепатотоксинами. Основной механизм токсичности MCYST — ингибирование протеинфосфатаз (PP) типа 1 и 2A [86, 87]. Токсичность MCYST изменяется в широком диапазоне от нетоксичных до высокотоксичных ([6Z)-Adda⁵] MCYST-LR, LD₅₀ > 1200 мкг/кг; MCYST-LR, LD₅₀ = 50 мкг/кг) для различных вариантов структур [88]. Например, опубликованные значения LD₅₀ (мыши, внутрибрюшинно) для изомеров деметил-MCYST-RR составляют 180–250 мкг/кг, а для MCYST-RR — 600 мкг/кг [89]. И наоборот, деметилированные производные MCYST-LR менее токсичны (LD₅₀ = 90 ÷ 300 мкг/кг), чем MCYST-LR (50 мкг/кг). MCYST, содержащие гидрофобные аминокислотные остатки, такие как MCYST-LY, MCYST-LW и MCYST-LF, могут быть более токсичны, чем MCYST-LR [90]. Кроме того, смесь MCYST может быть более токсичной, чем её отдельные представители [90].

В 1997 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) установила рекомендуемое значение ПДК для MCYST-LR, признанного наиболее токсичным, для питьевой воды — 1 мкг/л, для рекреационных вод — 20 мкг/л. Однако оценка содержания только одного представителя MCYST является не совсем правильной, так как другие MCYST могут обладать сравнимой токсичностью и присутствовать в гораздо большем количестве.

Руководствуясь подобными соображениями, некоторые страны установили свои допустимые пределы содержания MCYST. Так, в Австралии значение нормируемого суммарного содержания MCYST для питьевой воды составляет 1,3 мкг/л, в США каждый штат устанавливает свои ориентировочно безопасные уровни содержания гепатотоксинов для рекреационных вод (например, для вод озёр штата Вашингтон — 6,0 мкг/л) [60].

В связи с ростом числа случаев отравления цианотоксинами важно изучить механизмы токсичности с целью разработать схемы детоксикации организма. Механизм основного токсического действия MCYST заключается в ингибировании протеинфосфатаз (PP) типа 1. Взаимодействие молекулы MCYST-LR и PP осуществляется при помощи аминокислотных остатков, входящих в структуру микроцистина, а именно: Adda-кислоты в положении 5, лейцина в положении 2 и метилдегидроаланина в положении 7. Конформация MCYST-LR позволяет молекуле связываться с высокой аффинностью с PP типа 1, как представлено на рис. 3 [91].

Молекулярное взаимодействие между MCYST и PP изучалось при использовании методов осаждения иммунных комплексов, автордиографии, обращённо-фазовой хроматографии, рентгеноструктурного анализа, ядерномагнитного резонанса (ЯМР) и симуляции молекулярной динамики [91–98]. Методами молекулярного моделирования и симуляции молекулярной динамики было установлено, что MCYST связываются с PP в Y-образной полости, содержащей на поверхности каталитические сайты PP1 [95]. В связывании в молекуле MCYST участвуют аминокислоты Glu, Adda, Leu и Mdha, (рис. 3).

Взаимодействие MCYST-LR, -LA и -LL с ферментами PP1 и PP 2A протекает в две фазы. Первая (быстрая) фаза длится несколько минут и заключается в инактивации PP. Вторая (медленная) фаза взаимодействия представляет собой ковалентное связывание, которое протекает в течение нескольких часов [94]. Первоначальное быстрое связывание и инактивация протеинфосфатазы, вероятно, являются результатом нескольких нековалентных взаимодействий. Карбоксильная группа глутаминовой аминокислоты MCYST-LR взаимодействует с ионами металлов (Fe, Mn) в каталитических сайтах PP1 [88]. Глутаминовая кислота, по-видимому, является важным компонентом в связывании, так как было установлено, что этерификация снижает токсичность MCYST [88]. Также было установлено, что L-Leu в структуре MCYST-LR участвует в гидрофобном

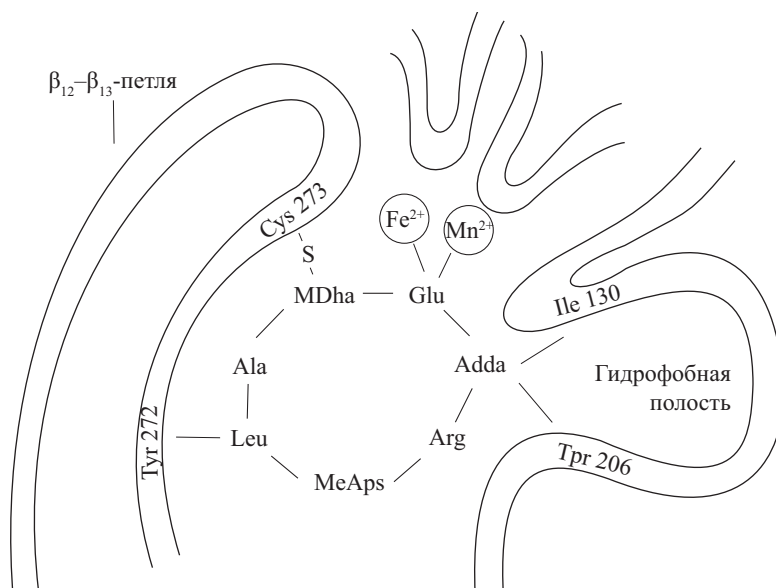


Рис. 3. Цикл взаимодействия молекулы MCYST-LR с протеинфосфатазой типа 1:

MDha (через S может взаимодействовать с Cys 273) → Glu (может взаимодействовать с ионами металлов Fe^{2+} и Mn^{2+}) → Adda (может взаимодействовать с Ile 130 и Trp 206) → Arg → MeAps → Leu (может взаимодействовать с Tyr 272) → Ala

взаимодействии с Tyr 272 PP1 [91, 99]. Боковая цепь Adda-кислоты вовлекается в гидрофобное взаимодействие между аминокислотными остатками Trp 206 и Ile 130 в гидрофобной полости PP1 [99]. Вероятно, что длинная боковая цепь Adda-кислоты помогает ориентировать молекулу токсина для связывания с каталитическими сайтами [95]. При изучении вклада Adda-кислоты в проявление токсических свойств было показано, что упрощение структуры MCYST до дипептида, полученного на основе *N*-ацетилированных Adda и единственной дополнительной аминокислоты, сохраняет способность ингибировать PP1 и 2A [100–103]. Дальнейшее упрощение структуры, содержащей Adda-кислоту, приводит только к неактивным соединениям [104].

Вторая фаза взаимодействия между MCYST и PP состоит в ковалентном связывании [94]. Методом осаждения иммунных комплексов и автордиографии было показано, что ковалентная связь образуется при взаимодействии метильной группы Mdhа с тиолом Cys 273, расположенным в С-терминале PP1. Метод ЯМР и рентгеновская кристаллография подтверждают ковалентную связь с участием Cys 273 в комплексе MCYST-LR и PP1 [91, 105] и Cys 266 при взаимодействии MCYST с PP2A [102–104]. Замена Cys 273 в PP1 методом направленного мутагенеза привела к потере связывания с MCYST [103, 107]. Образующаяся в этом положении ковалентная связь, возможно, делает взаимодействие с микроцистином необратимым. Аналоги MCYST, не содержащие в структуре Mdhа, не способны образовывать ковалентную связь с протеинфосфатазами [93, 94, 98]. Таким образом, любые изменения в структуре молекулы MCYST будут влиять на его взаимодействие с PP.

Однако, по мнению ряда авторов, ковалентное связывание между MCYST и PP не является необходимым для ингибирования фермента, поскольку взаимодействия, происходящие во время первой «быстрой» фазы, уже способны вызвать инактивацию фермента [99]. Модификации молекул MCYST или PP, осуществляемые для предот-

вращения ковалентного связывания, в основном снижают, но полностью не исключают токсическое действие [93, 106].

Гиперфосфорилирование многих клеточных белков является первичным острым эффектом MCYST. Молекулы MCYST преимущественно воздействуют на клетки печени млекопитающих, поскольку не способны к проникновению через мембраны клеток большинства тканей, но активно транспортируются в гепатоциты [107]. Ингибирование РР в этих клетках приводит к чрезмерной активации рецепторов из-за недостаточной регуляции фосфатазами, что приводит к разрушению клеток [108] или пролиферации клеток и прогрессированию опухолей [109]. Позднее было установлено, что и другие представители важных эукариотических регуляторных ферментов — сериновых и треониновых протеинфосфатаз (PP3, PP4, PP5) также подвергаются ингибированию [106].

Установлено, что микроцистины аккумулируются в организме. В течение 6 дней примерно 24% принятой дозы выделяется из организма, из которых 9% — через кишечник и 14,5% — через почки. MCYST-LR в основном концентрируется в печени. Другие ткани подвергаются воздействию в гораздо меньшей мере [111].

3. Другие виды биологической активности цианотоксинов. Большинство метаболитов цианобактерий проявляют различные виды биологической активности. В настоящее время широко проводятся исследования метаболитов цианобактерий как потенциальных лекарственных средств, обладающих эффективностью и селективностью действия, противоопухолевой, противовирусной, противомикробной, противомаларийной, антигрибковой активностью, предложено их использование в качестве антифидантов, гербицидов и иммунодепрессантов [112, 113]. Например, сакситоксины — соединения, принадлежащие к группе нейротоксичных цианобактериальных метаболитов, — рассматриваются как эффективные анестезирующие и обезболивающие средства [114, 115]. В ходе клинических испытаний было показано, что неосакситоксин обеспечивает более выраженный анестезирующий эффект по сравнению с применяемыми в настоящий момент аналогами новокаина (bupivacaine) [115], а гониатоксин 2 может использоваться для лечения патологий, вызванных мышечными спазмами [114].

Анатоксин-а(s) является одним из редких органофосфатов природного происхождения с инсектицидным действием, на основе которого могут быть созданы пестициды нового поколения. Синтетические органофосфаты, используемые уже давно, растворяются в липидах и имеют тенденцию накапливаться в клеточных мембранах различных органов человека и животных. В отличие от них анатоксин-а(s) растворяется в воде и, следовательно, более подвержен биодegradации. Однако он хуже проникает через богатые липидами кутикулы и экзоскелет насекомых. Взяв за основу структуру анатоксина-а(s), вероятно, можно синтезировать вещество, обладающее минимальной способностью накапливаться в тканях позвоночных, но с сильным эффектом в отношении вредителей сельского хозяйства [116].

С фармакологической точки зрения, MCYST — стабильные гидрофильные циклические гептапептиды, вызывающие повреждение клеток в случае доставки при помощи полипептида, транспортирующего органические анионы (ОАТР) [117, 118]. Среди таких полипептидов выделяют типы ОАТР, которые преимущественно экспрессируются в раковой ткани по сравнению с нормальной тканью, что способствует рассмотрению некоторых MCYST в качестве потенциальных кандидатов для создания противоопухолевых лекарственных средств [117, 119]. Кроме ингибирования РР1 и РР2 MCYST

также вызывают снижение концентраций глутатиона и образование реакционноспособных форм кислорода [120].

Возможно также проявление этими соединениями более широкого спектра биологической активности.

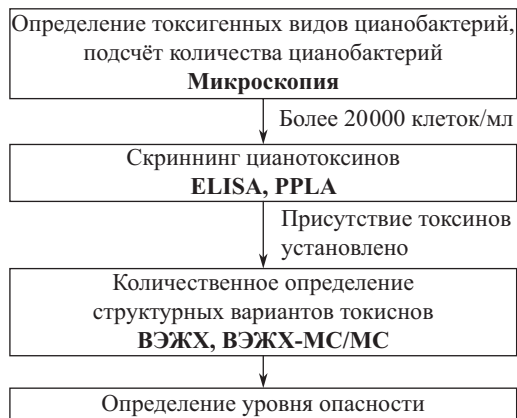


Рис. 4. Алгоритм определения цианотоксинов в природных водоёмах

Для скринингового неселективного определения используют биохимические методы, предполагающие использование живых организмов (мышей, беспозвоночных и т. д.). Однако метод биотестирования неспецифичен и не очень приемлем этически и экономически [122].

Для скринингового неселективного определения используют биохимические методы анализа. Для анализа сакситоксинов применяют иммуноферментный анализ с использованием поликлональных антител [123–125], на основе которого разработан коммерческий продукт — тест-система Ridascreen™ (R-Biopharm, Darmstadt, Germany). Анализы, проводимые с использованием данного метода, хорошо зарекомендовали себя для систематического полуколичественного контроля содержания сакситоксинов в моллюсках [126, 127]. Однако множество структурных вариантов сакситоксинов, присутствующих в пробах в различных соотношениях, значительно затрудняет анализ данным методом. Хорошие результаты отмечали при анализе образцов с содержанием dcSTX и GTX 5 с использованием коммерческого продукта Ridascreen ELISA [128], а присутствие в пробах неосакситоксина, гониатоксина 1 и 4 приводило к ошибочному определению [129]. Сопоставление результатов, полученных разными методами, показало, что концентрации сакситоксинов, определённые при помощи ELISA, были выше, чем полученные методом ВЭЖХ, но ниже результатов токсикологических исследований [129].

Рецепторные методы определения анатоксина-а основаны на его сродстве к никотиновым рецепторам, что позволяет определять содержание на уровне 10–5000 мкг/л [9]. Кроме того, применяются иммуноферментные методы с использованием коммерческих систем Anatoxin-a ELISA Kit Abraxis.

В настоящее время наиболее применяемым способом анализа антоксина-а(s) является иммуноферментный анализ на ингибирование ацетилхолинэстеразы, разработанный для органофосфатов. Однако вследствие известной неселективности данного метода (ацетилхолинэстеразу ингибирует большинство известных органофосфатных и карбаматных инсектицидов) необходимо проводить исследования с использованием референтного метода, например при помощи тандемной хромато-масс-спектрометрии,

4. Методы определения цианотоксинов.

Для мониторинга состояния воды во время цианобактериальных «цветений» рекомендуется действовать по алгоритму, приведённому на рис. 4 [121]. В случае превышения относительно безопасного количества клеток токсигенных видов цианобактерий (средний уровень опасности — более 20 000 клеток/мл) [6], установленного методами микроскопии, рекомендуется проводить определение присутствия цианотоксинов в природных водоёмах. С этой целью используется ряд биологических, биохимических и физико-химических методов.

4.1. Скрининговые методы анализа.

Для оценки токсикологического состояния водных ресурсов применяются биологические методы, предполагающие использование живых организмов (мышей, беспозвоночных и т. д.). Однако метод биотестирования неспецифичен и не очень приемлем этически и экономически [122].

для исключения присутствия в пробах инсектицидов. Кроме того, были разработаны биосенсоры на основе выявления электрохимической активности ацетилхолинэстеразы. Одноразовые амперометрические датчики имели предел обнаружения анатоксина-а(s) в дозе 1 мкг/л [130].

Иммуноферментный анализ также используется для скрининга гепатотоксичных цианометаболитов. Коммерчески доступны наборы ELISA для определения общего содержания гепатотоксинов, произведённые различными компаниями, например ABRAXIS и ENVIROLOGIX. Пределы количественного обнаружения цианометаболитов с использованием коммерческих наборов ELISA обычно составляют около 0,1–2,0 мкг/л, что сопоставимо с уровнем допустимого содержания MCYST-LR в питьевой воде по рекомендациям ВОЗ (1 мкг/л) и, следовательно, позволяет проводить анализ без концентрирования.

Однако этот метод позволяет оценить только общее содержание цианотоксинов в образце, но не идентифицировать отдельные изомеры [131]. Известно также [132, 133], что метод может давать ложноположительные результаты из-за матричных эффектов, а результаты по тест-системам ELISA, произведённых различными компаниями, могут различаться [134].

Другим широко используемым методом анализа гепатотоксичных цианометаболитов, в частности MCYST, является исследование ингибирования фосфатазной активности белков. В вариантах метода, основанных на использовании *para*-нитрофенилфосфата в качестве субстрата для рекомбинантного белка фосфатазы 1, измеряют количество окрашенного продукта реакции — *para*-нитрофенола [86, 135, 136]. Разработан вариант метода для определения гепатотоксинов непосредственно в воде с использованием протеинфосфатазы 2А и *para*-нитрофенилфосфата, чувствительность которого составила 0,2–1,0 мкг/л [137]. Однако присутствие в образцах некоторых матричных соединений, например ионов железа Fe^{3+} и алюминия Al^{3+} [138], может приводить к недооценке содержания токсина.

Для скрининга MCYST также используется метод определения 3-метокси-2-метил-4-фенилмасляной кислоты (ММРВ) с использованием газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектором или высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с флуоресцентным детектором [139]. ММРВ является продуктом окисления характеристической Adda-кислоты в MCYST и нодуляринах [140]. ММРВ получают при помощи окисления перманганатом или периодатом [140] или озонирования [141]. В качестве внутреннего стандарта применяют дейтерий-меченый ММРВ [142]. Данный метод является чувствительным, подходит для определения общего содержания MCYST и нодуляринов и успешно применяется для определения связанных MCYST в тканях и осадках [139]. Кроме того, для реализации данного метода не требуются стандартные соединения микроцистинов. Недостатками метода являются невозможность определения структурных вариантов, а также вероятность получения завышенного результата в связи с возможным присутствием в образце неустановленных нетоксичных продуктов деструкции, содержащих Adda-кислоту.

Таким образом, использование скрининговых биохимических методов позволяет определить присутствие и ориентировочное содержание гепато- и нейротоксичных цианометаболитов, помогает уменьшить число образцов, которые требуют полного аналитического исследования. Кроме того, быстрое получение результатов может ускорить принятие нормативных мер, необходимых для защиты пользователей воды.

4.2. Методы селективного определения изучаемых цианотоксинов. Мониторинг водных объектов с целью определить содержание цианотоксинов часто

осложняется тем, что образцы могут содержать сложные смеси MCYST и других метаболитов цианобактерий. Например, установлено одновременное продуцирование 19 структурных вариантов MCYST у видов рода *Microcystis* в США [121]. В связи с этим для косвенной оценки общей токсичности сложных образцов, содержащих смесь цианотоксинов, необходимо применение селективных физико-химических методов.

4.2.1. *Хроматографические методы определения цианотоксинов.* Для селективного определения рассматриваемых токсичных соединений необходимо применение хроматографических методов. Их эффективность зависит от типа используемого детектора [75, 143, 144]. Например, метод ВЭЖХ с УФ-детектированием может быть недостаточно селективным, поскольку MCYST имеют сходные спектры поглощения. Основной хромофорной группой MCYST, поглощающей при 238 нм, является система сопряженных двойных связей в аминокислотном остатке Adda [145] с дополнительным поглощением ненасыщенной карбонильной группировкой в аминокислотном остатке Mdha/Mdhh (положение 7 в цикле). Дополнительный максимум при длине волны 222 нм наблюдается только в спектре триптофансодержащих MCYST [144].

Для хроматографического разделения смеси MCYST используется преимущественно обращённо-фазовая хроматография с различными составами подвижной фазы: нейтральные с добавкой ацетата аммония и ацетонитрила, кислотные с добавлением трифторуксусной кислоты и ацетонитрила, метанол-содержащие с различными буферами и значениями pH. Для разделения двух-шести вариантов структур используются изократические режимы элюирования [146, 148], для более сложных смесей — градиентные [144, 149, 150].

Международная организация по стандартизации установила стандарт определения и количественного анализа MCYST в природной воде, содержащей биомассу, и в очищенной воде — ISO 20179:2005. Он введён в октябре 2005 г., пересмотрен и подтверждён в 2014 г. [151]. В методе используется разделение экстракта MCYST методом ВЭЖХ на обращённо-фазовой колонке с последующим УФ-детектированием. Описанный метод валидирован для количественного определения MCYST-RR, MCYST-YR и MCYST-LR. Он также применим для определения нескольких структурных вариантов этих MCYST, но однозначная идентификация не предусмотрена из-за отсутствия коммерчески доступных стандартов и значительных матричных эффектов.

Для детектирования сакситоксинов применяется ВЭЖХ с флуоресцентным детектированием [29]. Поскольку сакситоксины являются слабыми хромофорами, перед детектированием их необходимо модифицировать с применением пред- или послеклоночной дериватизации [152]. Для разделения смеси сакситоксинов в качестве альтернативы ВЭЖХ предложены методики с использованием капиллярного электрофореза [153, 154]. Но наряду с такими преимуществами последних, как быстрота проведения анализа и небольшой расход образца, существенным их недостатком является низкая чувствительность. Пределы обнаружения в сотни раз выше по сравнению с таковыми для анализа методом ВЭЖХ с флуоресцентным детектированием.

Для детектирования анатоксина-а применяют хроматографические методы с использованием ультрафиолетового ($\lambda_{\max} = 227$ нм) [155, 156] или флуориметрического детектора после дериватизации с 4-фтор-7-нитро-2,1,3-бензоксадиазолом [157], а также тонкослойную хроматографию [158, 159].

Применение физико-химических методов для детектирования анатоксина-а(s) осложнено рядом проблем. Отсутствие хромофорной группы в структуре анатоксина-а(s) приводит к невозможности использования УФ-детектирования [160].

Стоит отметить, что методы ВЭЖХ широко используются для разделения сложных природных смесей в сочетании с другими методами детектирования. Известны методы ВЭЖХ-МС для определения сакситоксинов с применением обращённо-фазового разделения [161, 162]. Однако большое содержание водной компоненты в подвижной фазе и присутствие ион-парных реагентов, применяющихся для улучшения хроматографического удерживания, могут нарушать ионизацию аналитов. В [163, 164] представлены варианты масс-спектрометрического (МС) метода, использующие для разделения смесей жидкостную хроматографию гидрофильных взаимодействий (HPLC), при которой разделение гидрофильных аналитов достигается без использования ион-парных реагентов при высоком содержании органической компоненты в подвижной фазе.

Таким образом, определение индивидуальных нейро- и гепатотоксинов методом ВЭЖХ с УФ-детектированием может быть недостаточно селективным, однако её использование для разделения сложных природных смесей при МС-детектировании является эффективным.

4.2.2. Масс-спектрометрические методы определения цианотоксинов. Для селективного определения цианотоксинов используют различные МС-методы анализа. Так, масс-спектрометрия с ионизацией лазерной десорбцией (МАЛДИ-МС) широко применяется для качественного анализа и структурной идентификации пептидов. Наиболее достоверным методом определения и идентификации цианометаболитов является сочетание жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС), которая позволяет не только определять структуры присутствующих метаболитов при использовании тандемной масс-спектрометрии (МС/МС), но и проводить количественный анализ [114]. При использовании методов ионизации электрораспылением (ИЭР) и МАЛДИ получаемые масс-спектры в основном представлены пиками молекулярных ионов, что позволяет установить брутто-формулу анализируемых веществ.

В связи с низкой молекулярной массой соединений группы сакситоксинов их изучение методом МАЛДИ-МС затруднено. Однако данный метод успешно применяется для определения комплексов сакситоксинов с белками в биологических образцах [165]. Поскольку метод МАЛДИ-МС разработан для анализа сложных биоорганических молекул, к которым относятся МСУСТ, он успешно применяется для их изучения [166, 167]. Достоинствами метода являются минимальная пробоподготовка, малый объём образца, идентификация структурных вариантов.

В начале 1990-х гг. открытие ИЭР сделало ВЭЖХ-МС более удобным в использовании. Был достигнут значительный выигрыш в чувствительности. В 1993 г. метод ВЭЖХ-ИЭР-МС был впервые применён для количественного определения цианометаболитов, включая МСУСТ и сакситоксины [168]. МС-детектирование изучаемых цианотоксинов осуществляется в режиме регистрации положительных ионов при сканировании широкого диапазона масс или при использовании режима мониторинга заданных реакций [74, 161, 169, 170]. На сегодняшний момент разработано много вариантов определения сакситоксинов методом ИЭР-МС при использовании тройных квадрупольных, а также приборов, оснащённых ионной ловушкой [171], времяпролётным детектором [172], квадрупольных времяпролётных инструментов [173]. Несмотря на это, в литературе представлено незначительное количество информации о путях фрагментации сакситоксинов и фрагментных масс-спектров.

Масс-спектрометрия в сочетании с жидкостной хроматографией в настоящее время широко используется для обнаружения АН-а из проб природной воды и экстрактов цианобактерий [174–176]. Однако в случае анатоксина-а(s) возможность оптимизации пробоподготовки и параметров для масс-спектрометрического детектирования

существенно затрудняется из-за отсутствия коммерчески доступного стандарта. На сегодняшний день известны работы лишь одной исследовательской группы, предлагающей масс-спектрометрический метод для определения анатоксина-а(s) [177].

В настоящее время опубликован ряд зарубежных статей, описывающих различные подходы МС-идентификации и детектирования МСYST [74, 169, 170, 178, 179]. Для подтверждающего анализа МСYST часто выбирают ион с $m/z = 135$ — фрагмент боковой цепи Adda-кислоты, поскольку он редко наблюдается в фрагментных спектрах других соединений [74, 180, 181]. В отечественной литературе представлены методы масс-спектрометрического определения с использованием высокого разрешения [182], а также оптимизированной аналитической процедуры МС-определения структурных вариантов цианотоксинов в объектах окружающей среды с использованием более доступных масс-спектрометров низкого разрешения в отсутствие полного набора стандартных соединений [183].

Сравнительный анализ методов, применяемых для определения цианотоксинов, приведён в табл. 3 [121].

Таблица 3

Сравнительная таблица методов, применяемых для количественного определения цианотоксинов

Характеристика	Метод исследования						
	Токс.	РРА	ИФА	ВЭЖХ	ММРВ	ВЭЖХ-МС/МС	МАЛДИ-МС/МС
Низкая стоимость	+	+	+	+	+	—	—
Быстрый результат	+	++	++	++	+	++	++
Чувствительность	—	++	++	+	+	++	++
Оценка токсичности	++	++	—	—	—	—	—
Детектирование новых МСYST	++	++	++	+	++	++	++
Идентификация индивидуальных МСYST	—	—	—	++	—	++	+

Примечания. 1. Обозначения в таблице: «—» — метод не подходит; «+» — применение связано с некоторыми сложностями; «++» — метод подходит, есть потенциал для его развития. 2. Токс. — токсикологические исследования, РРА — ингибирование фосфатазной активности, ИФА — иммуноферментный анализ, ММРВ — метод определения суммарного содержания МСYST по продукту окисления характеристической Adda-кислоты.

На основании приведённого выше обсуждения и данных сравнения методов для определения структурных вариантов большинства цианотоксинов установлено, что МС-методы являются наиболее достоверными. Таким образом, применение современных методов масс-спектрометрии позволяет успешно изучать токсичные метаболиты цианобактерий.

При использовании метода масс-спектрометрии необходима предварительная подготовка пробы. Поскольку цианотоксины являются минорными компонентами в составе сложных природных смесей, главными задачами пробоподготовки являются извлечение и концентрирование целевых компонентов, а также снижение влияния матрицы [184]. Подготовка пробы воды для определения внеклеточных (выделившихся) токсинов осуществляется методом твердофазной экстракции с применением коммерчески доступных патронов Oasis HLB (Waters), которые благодаря развитой гидрофильно-липофильной поверхности сорбента способны удерживать широкий диапазон полярных соединений [169, 184, 185].

Существующие процедуры пробоподготовки для извлечения внутриклеточных токсинов основаны на разрушении клеточных стенок цианобактерий с последующей ультразвуковой экстракцией при использовании водно-спиртовых составов [121]. Включение в процедуру подготовки пробы этапа осаждения белковых соединений ацетонитрилом с последующей экстракцией водно-ацетонитрильными составами позволяет повысить селективность и эффективность извлечения MCYST [186].

Литература

1. Rasmussen B., Fletcher I. R., Brocks J. J., Kilburn M. R. Reassessing the first appearance of eukaryotes and cyanobacteria // *Nature*. 2008. Vol. 455 (7216). P. 1101–1104.
2. Stanier R. Y., Sistrom W. R., Hansen T. A., Whitton B. A., Castenholz R. W., Pfennig N., Gorlenko V. N., Kondratieva E. N., Eimhjellen K. E., Whittenburg R., Gherna R. L., Truper H. G. Proposal to place nomenclature of cyanobacteria (blue-green algae) under rules of international code of nomenclature of bacteria // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 1978. Vol. 28. P. 335–336.
3. Papke R. T., Ramsing N. B., Bateson M. M., Ward D. M. Geographical isolation in hot spring cyanobacteria // *Environ. Microbiol.* 2003. Vol. 5. P. 650–659.
4. Comte K., Sabacka M., Carre-Mlouka A., Elster J., Komarek J. Relationships between the Arctic and the Antarctic cyanobacteria; three Phormidium-like strains evaluated by a polyphasic approach // *FEMS Microbiol Ecol.* 2007. Vol. 59. P. 366–376.
5. Apeldoorn M. E., Egmond H. P., Speijers G. J. A., Bakker G. J. I. Toxins of cyanobacteria // *Mol. Nutr. Food Res.* 2007. Vol. 51. P. 7–60.
6. Codd G. A., Morrison L. F., Metcalf J. S. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2005. Vol. 203. P. 264–272.
7. Paerl H. W., Huisman J. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms // *Environ. Microbiol. Rep.* 2009. Vol. 1. P. 27–37.
8. Davis T. W., Berry D. L., Boyer G. L., Gobler C. J. The effects of temperature and nutrients on the growth and dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms // *Harmful Algae*. 2009. Vol. 8. P. 715–725.
9. Toxic Cyanobacteria // *Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management* / eds I. Chorus, J. Bartram. London: WHO, 1999. 432 p.
10. Falconer I. R., Humpage A. R. Health risk assessment of cyanobacterial (blue-green algae) toxins in drinking water // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2005. Vol. 2, N 1. P. 43–50.
11. Pearson L., Mihali T., Moffitt M., Kellmann R., Neilan B. On the chemistry, toxicology and genetics of the cyanobacterial toxins, microcystin, nodularin, saxitoxin and cylindrospermopsin // *Mar. Drugs*. 2010. Vol. 8. P. 1650–1680.
12. Guidelines for drinking water quality. 4th ed. World Health Organization, 2011. URL: http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/2011/dwq_guidelines/en (дата обращения: 3.07.2017).
13. Lürling M., Waajen G., Senerpont Domis de L. N. Evaluation of several end-of-pipe measures proposed to control cyanobacteria // *Aquat. Ecol.* 2016. Vol. 50. P. 499–519.
14. Matthijs H. C. P., Jančula D., Visser P. M., Maršálek B. Existing and emerging cyanocidal compounds: new perspectives for cyanobacterial bloom mitigation // *Aquat. Ecol.* 2016. Vol. 50. P. 443–460.
15. Stroom J., Kardinaal W. E. A. How to combat cyanobacterial blooms: strategy toward preventive lake restoration and reactive control measures // *Aquat. Ecol.* 2016. Vol. 50. P. 541–576.
16. Trifonova I. S., Pavlova O. A. Phytoplankton succession in urban water bodies of St. Petersburg as an indicator of their ecological conditions // *Limnol. Rev.* 2008. Vol. 8, N 3. P. 137–141.
17. Матишов Г. Г., Ковалёва Г. В. Цветение воды в водоёмах юга России и сбои в водоснабжении (на примере г. Волгодонска) // *Вестн. ЮНЦ РАН*. 2010. Т. 6, № 1. С. 71–79.
18. Матишов Г. Г., Матишов Д. Г., Фустей Т. В., Руднев М. И., Соьер В. Г., Зимаков Д. В. Обнаружение токсинов цианопрокариот в планктоне нижнего Дона методом масс-спектрометрии // *Вестн. ЮНЦ РАН*. 2006. Т. 2, № 2. С. 75–78.
19. Александров С. В. Влияние «цветения» сине-зелёных водорослей на экологическое состояние Куршского залива // *Вода: химия и экология*. 2009. № 4. С. 2–6.
20. Aráoz R., Molgó J., Marsac de N. T. Neurotoxic cyanobacterial toxins // *Toxicon*. 2010. Vol. 56, N 5. P. 813–828.

21. Toxins. Potential chemical weapons from living organisms. Organization for the prohibition of chemical weapons. URL: <https://www.opcw.org/protection/types-of-chemical-agent/toxins/> (дата обращения: 3.07.2017).
22. Антонов Н. Химическое оружие на рубеже двух столетий. М.: Прогресс, 1994. 174 с.
23. Wiese M., D'Agostino P. M., Mihali T. K., Moffitt M. C., Neilan B. A. Neurotoxic alkaloids: Saxitoxin and its analogs // *Mar. Drugs*. 2010. Vol. 8, N 7. P. 2185–2211.
24. Shumway S. E. Phycotoxin-related shellfish poisoning: Bivalve molluscs are not the only vectors // *Rev. Fish. Sci.* 1995. Vol. 3. P. 1–31.
25. Ibelings B. W., Chorus I. Accumulation of cyanobacterial toxins in freshwater “seafood” and its consequences for public health: A review // *Environ. Pollut.* 2007. Vol. 150. P. 177–192.
26. Botana L. M. Seafood and freshwater toxins: Pharmacology, physiology, and detection, second edition. New York: CRC Press, 2000. 816 p.
27. Shimizu Y. Chemistry and mechanism of action // *Seafood and freshwater toxins* / ed. by L. M. Botana. New York: Marcel Dekker, 2000. P. 151–172.
28. Hall S., Reichardt P. B., Neve R. A. Toxin extracted from an Alaskan isolate of *Protogonyaulax* sp. // *Biochem. Biophys. Res. Co.* 1980. Vol. 97, N 2. P. 649–653.
29. Koehn F. E., Hall S., Wichmann C. F., Schnoes H. K., Reichardt P. B. Dinoflagellate neurotoxins related to saxitoxin: structure and latent activity of toxins B1 and B2 // *Tetrahedron Lett.* 1982. Vol. 23, N 22. P. 2247–2248.
30. Shimizu Y., Hsu C. P., Fallon W. E., Oshima Y., Miura I., Nakanishi K. The structure of neosaxitoxin // *J. Am. Chem. Soc.* 1978. Vol. 100, N 21. P. 6791–6793.
31. Rogers R. S., Rapoport H. The pKa's of saxitoxin // *J. Am. Chem. Soc.* 1980. Vol. 102, N 24. P. 7335–7339.
32. Schantz E. J., Ghazarossian V. E., Schnoes H. K., Strong F. M., Springer J. P., Pezzanite J. O., Clardy J. The structure of saxitoxin // *J. Am. Chem. Soc.* 1975. Vol. 97, N 5. P. 1238–1239.
33. Oshima Y. Postcolumn derivatization liquid chromatographic method for paralytic shellfish toxins // *J. AOAC Int.* 1995. Vol. 78. P. 528–532.
34. EFSA. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the European commission on marine biotoxins in shellfish — saxitoxin group // *EFSA J.* 2009. Vol. 1019. P. 1–76.
35. Botana L. M., Hess Ph., Munday R., Nathalie A., DeGrasse S. L., Feeley M., Suzuki T., Berg van den M., Fattori V., Gamarro E. G., Tritscher A., Nakagawa R., Karunasagar I. Derivation of toxicity equivalency factors for marine biotoxins associated with Bivalve Molluscs // *Trends in Food Science & Technology*. 2017. Vol. 59. P. 15–24.
36. Chorus I. Current approaches to cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries. Dessau: Umweltbundesamt, 2012. 147 p.
37. Kao C. Y., Walker S. E. Active groups of saxitoxin and tetrodotoxin as deduced from action of saxitoxin analogs on frog muscle and squid axon // *J. Physiol.* 1982. Vol. 323, N 1. P. 619–637.
38. Strichartz G. Structural determinants of the affinity of saxitoxin for neuronal sodium channels. Electrophysiological studies on frog peripheral nerve // *J. Gen. Physiol.* 1984. Vol. 84, N 2. P. 281–305.
39. Kao C. Y., Kao P. N., James-Kracker M. R., Koehn F. E., Wichmann C. F., Schnoes H. K. Actions of epimers of 12-(OH)-reduced saxitoxin and 11-(OSO3)-saxitoxin on squid axon // *Toxicol.* 1985. Vol. 23. P. 647–655.
40. Noda M., Suzuki H., Numa S., Stühmer W. A single point mutation confers tetrodotoxin and saxitoxin insensitivity on the sodium channel II // *FEBS Lett.* 1989. Vol. 259, N 1. P. 213–216.
41. Terlau H. S., Heinemann H., Stühmer W., Pusch M., Conti F., Imoto K., Numa S. Mapping the site of block by tetrodotoxin and saxitoxin on sodium channel-II // *FEBS Lett.* 1991. Vol. 293. P. 93–96.
42. Kontis K. J., Goldin A. L. Site-directed mutagenesis of the putative pore region of the rat IIA sodium channel // *Mol. Pharmacol.* 1993. Vol. 43, N 4. P. 635–644.
43. Lipkind G. M., Fozzard H. A. A structural model of the tetrodotoxin and saxitoxin binding site of the Na channel // *Biophys. J.* 1994. Vol. 66. P. 1–13.
44. Devlin J. P., Edwards O. E., Gorham P. R., Hunter M. R., Pike R. K., Stavric B. Anatoxin-a, a toxic alkaloid from *Anabaena flos-aquae* NCR-44h // *Can. J. Chem.* 1977. Vol. 55. P. 1367–1371.
45. Ballot A., Fastner J., Lentz M., Wiedner C. First report of anatoxin-a-producing cyanobacterium *Aphanizomenon issatschenkoi* in northeastern Germany // *Toxicol.* 2010a. Vol. 56. P. 964–971.
46. Gugger M., Lenoir S., Berger C., Ledreux A., Druart J. C., Humbert J. F., Guette C., Bernard C. First report in a river in France of the benthic cyanobacterium *Phormidium favosum* producing anatoxin-a associated with dog neurotoxicosis // *Toxicol.* 2005. Vol. 45. P. 919–928.

47. Lyra C., Suomalainen S., Gugger M., Vezie Ch., Sundman P., Paulin L., Sivonen K. Molecular characterization of planktic cyanobacteria of *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* and *Planktothrix* genera // Int. J. Syst. Evol. Micr. 2001. Vol. 51. P. 513–526.
48. Rantala-Yliven A., Kana S., Wang H., Rouhiainen L., Wahlsten M., Rizzi E., Berg K., Gugger M., Sivonen K. ANTX synthetase gene cluster of the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain 37 and molecular methods to detect potential producers // Appl. Environ. Microbiol. 2011. Vol. 77. P. 7271–7278.
49. Botana L. Phycotoxins. Chemistry and biochemistry. Ames: Blackwell Publishing, 2007. 345 p.
50. WHO. Guidelines for safe recreational water environments — vol. 1: Coastal and fresh waters. Geneva: World Health Organization, 2003. 253 p.
51. Huisman J., Matthijs H. C. P., Visser P. M. Harmful cyanobacteria. Dordrecht: Springer, 2005. 241 p.
52. Wonnacott S., Gallagher T. The chemistry and pharmacology of anatoxin-a and related homotropans with respect to nicotinic acetylcholine receptors // Mar. Drugs. 2006. Vol. 4. P. 228–254.
53. Swanson K. L., Aronstam R. S., Wonnacott S., Rapoport H., Albuquerque E. X. Nicotinic pharmacology of anatoxin analogs. I. Side chain structure-activity relationships at peripheral agonist and noncompetitive antagonist sites // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1991. Vol. 259, N 1. P. 377–386.
54. Wonnacott S., Jackman S., Swanson K. L., Rapoport H., Albuquerque E. X. Nicotinic pharmacology of anatoxin analogs. II. Side chain structure-activity relationships at neuronal nicotinic ligand binding sites // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1991. Vol. 259, N 1. P. 387–391.
55. Carmichael W. W., Gorham P. R. Anatoxins from clones of *Anabaena flos-aquae* isolated from lakes of western Canada // Mitt. Int. Ver. Limnol. 1978. Vol. 21. P. 285–295.
56. Edwards C., Beattie K. A., Scrimgeour C. M., Codd G. A. Identification of anatoxin-a in benthic cyanobacteria (blue-green algae) and in associated dog poisonings at Loch Insh, Scotland // Toxicol. 1992. Vol. 30, N 10. P. 1165–1175.
57. Cadel-Six S., Peyraud-Thomas C., Brient L., Marsac de N. T., Ripcka R., Mejean A. Different genotypes of anatoxin-producing cyanobacteria co-exist in the Tarn River, France // Appl. Environ. Microbiol. 2007. Vol. 73, N 23. P. 7605–7614.
58. Krienitz L., Ballot A., Kotut K., Wiegand C., Pütz S., Metcalf J. S., Codd G. A., Pflugmacher S. Contribution of hot spring cyanobacteria to the mysterious deaths of Lesser Famingos at lake Bogoria, Kenya // FEMS Microbiol. Ecol. 2003. Vol. 43, N 2. P. 141–148.
59. Fawell J. K., Mitchell R. E., Hill R. E., Everett D. J. The toxicity of cyanobacterial toxins in the mouse: II anatoxin-a // Hum. Exp. Toxicol. 1999. Vol. 18. P. 168–173.
60. Burch M. D. Effective doses, guidelines & regulations // Adv. Exp. Med. Biol. 2008. Vol. 619. P. 831–853.
61. Farrer D., Counter M., Hillwig R., Cude C. Health-based cyanotoxin guideline values allow for cyanotoxin-based monitoring and efficient public health response to cyanobacterial blooms // Toxins. 2015. Vol. 7. P. 457–477.
62. Roe S. J., Stockman R. A. A two-directional approach to the anatoxin alkaloids: second synthesis of homoanatoxin and efficient synthesis of anatoxin-a // Chem. Commun. 2008. Vol. 29. P. 3432–3434.
63. Mahmood N. A., Carmichael W. W. The pharmacology of anatoxin-a(s), a neurotoxin produced by the freshwater cyanobacterium *Anabaena flos-aquae* NRC 525-17 // Toxicol. 1986. Vol. 24, N 5. P. 425–434.
64. Henriksen P., Carmichael W. W., An J., Moestrup O. Detection of an anatoxin-a(s)-like anticholinesterase in natural blooms and cultures of cyanobacteria/blue-green algae from Danish lakes and in stomach contents of poisoned birds // Toxicol. 1997. Vol. 35. P. 901–903.
65. Molica R. J. R., Oliveira E. J. A., Carvalho P. V. V. C., Costa A. N. S. F., Cunha M. C. C., Melo G. L., Azevedo M. F. O. Occurrence of saxitoxins and an anatoxin-a(s)-like anticholinesterase in a Brazilian drinking water supply // Harmful Algae. 2005. Vol. 4, N 4. P. 743–753.
66. Cook W. O., Beasley V. R., Dahlem A. M., Dellinger J. A., Harlin K. S., Carmichael W. W. Comparison of effects of anatoxin-a(s) and paraoxon, physostigmine and pyridostigmine on mouse brain cholinesterase activity // Toxicol. 1988. Vol. 26, N 8. P. 750–753.
67. Matsunaga S., Moore R. E., Niemczura W. P., Carmichael W. W. Anatoxin-a(s), a potent anticholinesterase from *Anabena flos-aquae* // J. Am. Chem. Soc. 1989. Vol. 111, N 20. P. 8021–8023.
68. Carmichael W. W., Falconer I. R. Disease related to freshwater algal blooms // Advances in botanical research / ed. by J. A. Callow. London: Academic Press, 1993. P. 187–210.
69. Carmichael W. W., Mahmood N. A., Hyde E. G. Natural toxins from cyanobacteria (blue-green algae) // Marine toxins, origin, structure and molecular pharmacology / eds S. Hall, G. Strichartz. Washington: American Chemical Society, 1990. Vol. 418. P. 87–106.
70. Onodera H., Oshima Y., Henriksen P., Yasumoto T. Confirmation of anatoxin-a(s), in the cyanobacterium *Anabaena lemmermannii*, as the cause of bird kills in Danish lakes // Toxicol. 1997. Vol. 35, N 11. P. 1645–1648.

71. Mahmood N. A., Carmichael W. W., Pfahler D. Anticholinesterase poisoning in dogs from cyanobacterial (blue green algae) bloom dominated by *Anabaena flos-aquae* // Am. J. Vet. Res. 1998. Vol. 49. P. 500–503.
72. Meriluoto J., Spoof L., Codd G. A. Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis. West Sussex: Wiley, 2017. 576 p.
73. Welker M. Cyanobacterial hepatotoxins: Chemistry, biosynthesis and occurrence // Seafood and freshwater toxins. Pharmacology, physiology and detection / ed. by L. M. Botana. Boca Raton, 2008. P. 825–844.
74. Mazur-Marzec H., Spoof L., Kobos J., Pliški M., Meriluoto J. Cyanobacterial hepatotoxins, microcystins and nodularins, in fresh and brackish waters of the Pomeranian Province, northern Poland // Oceanol. Hydrobiol. St. 2008. Vol. 37, N 4. P. 3–21.
75. Botana L. Seafood and freshwater toxins. Pharmacology, physiology and detection. Boca Raton: CRC Press, 2008. 941 p.
76. Diehnelt C. W., Dugan N. R., Peterman S. M., Budde W. L. Identification of microcystin toxins from a strain of *Microcystis aeruginosa* by liquid chromatography introduction into a hybrid linear ion trap-Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer // Anal. Chem. 2006. Vol. 78. P. 501–512.
77. Harada K. I., Tsuji K., Watanabe M. F., Kondo F. Stability of microcystins from cyanobacteria III. Effect of pH and temperature // Phycologia. 1996a. Vol. 35. P. 83–88.
78. Metcalf J. S., Codd G. A. Microwave oven and boiling waterbath extraction of hepatotoxins from cyanobacterial cells // FEMS Microbiol. Lett. 2000. Vol. 184, N 2. P. 241–246.
79. Gagala I., Mankiewicz-Boczek J. The natural degradation of microcystins (cyanobacterial hepatotoxins) in fresh water — the future of modern treatment systems and water quality improvement // Pol. J. Environ. Stud. 2012. Vol. 21. P. 1125–1139.
80. Edwards C., Graham D., Fowler N., Lawton L. A. Biodegradation of microcystins and nodularin in freshwaters // Chemosphere. 2008. Vol. 73. P. 1315–1321.
81. Fitzgeorge N. L. M., Clark S. A., Kelvin C. W. Routes of intoxication // Detection methods for cyanobacterial (Blue-green algal) toxins / eds G. A. Codd, T. M. Jefferies, C. W. Keevil, E. Potter. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1994. P. 69–74.
82. Ueno Y., Nagata S., Tsutsumi T., Hasegawa A., Watanabe M. F., Park H. D., Chen G., Yu S. Z. Detection of microcystin, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay // Carcinogenesis. 1996. Vol. 17, N 6. P. 1317–1321.
83. Chen J., Xie P., Li L., Xu J. First identification of the hepatotoxic microcystins in the serum of a chronically exposed human population together with indication of hepatocellular damage // Toxicol. Sci. 2009. Vol. 108, N 1. P. 81–89.
84. Klein A. R., Baldwin D. S., Silvester E. Proton and iron binding by the cyanobacterial toxin microcystin-LR // Environ. Sci. Technol. 2013. Vol. 47, N 10. P. 5178–5184.
85. Maaq de P. G.-J., Hendriks A. J., Seinen W., Stijm D. T. H. M. pH-dependent hydrophobicity of the cyanobacteria toxin microcystin-LR // Water Res. 1999. Vol. 33, N 3. P. 677–680.
86. An J., Carmichael W. W. Use of a colorimetric protein phosphatase inhibition assay and enzyme linked immunosorbent assay for the study of microcystins and nodularins // Toxicol. 1994. Vol. 32. P. 1495–1507.
87. Runnegar M. T. C., Berndt N., Kong S. M., Lee E. Y., Zhang L. In vivo and in vitro binding of microcystin to protein phosphatases 1 and 2A // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1995a. Vol. 216, N 1. P. 162–169.
88. Rinehart K. L., Namikoshi M., Choi B. W. Structure and biosynthesis of toxins from bluegreen algae (cyanobacteria) // J. Appl. Phycol. 1994. Vol. 6. P. 159–176.
89. Sivonen K., Jones G. Cyanobacterial toxins // Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management / eds I. Chorus, J. Bartram. London, 1999. P. 41–111.
90. Ward C. J., Codd G. A. Comparative toxicity of four microcystins of different hydrophobicities to the protozoan, *Tetrahymena pyriformis* // J. Appl. Microbiol. 1999. Vol. 86. P. 874–882.
91. Goldberg J., Huang H.-B., Kwon Y.-G., Greengard P., Nairn A. C., Kuriyan J. Three-dimensional structure of the catalytic subunit of protein serine/threonine phosphatase-1 // Nature. 1995. Vol. 376, N 6543. P. 745–753.
92. Runnegar M., Berndt N., Kaplowitz N. Microcystin uptake and inhibition of protein phosphatases: effects of chemoprotectants and self-inhibition in relation to known hepatic transporters // Toxicol. Appl. Pharmacol. 1995b. Vol. 134. P. 264–272.
93. MacKintosh R. W., Dalby K. N., Campbell D. G., Cohen P. T. W., MacKintosh C. The cyanobacterial toxin microcystin binds covalently to cysteine-273 on protein phosphatase 1 // FEBS Lett. 1995. Vol. 371. P. 236–240.

94. *Craig M., Luu H. A., McCready T. L., Williams D., Andersen R. J., Holmes C. F.* Molecular mechanisms underlying the interaction of motuporin and microcystins with type-1 and type-2A protein phosphatases // *Biochem. Cell Biol.* 1996. Vol. 74, N 4. P. 569–578.
95. *Mattila K., Annala A., Rantala T. T.* Metal ions mediate the binding of cyanobacterial toxins to human protein phosphatase I. URL: <http://www.urn.fi/urn:isbn:9514257693> (дата обращения: 3.07.2017).
96. *Mikhailov A., Härmälä-Brask'an A.-S., Hellman J., Meriluoto J., Eriksson J. E.* Identification of ATP-synthase as a novel intracellular target for microcystin-LR // *Chem. Biol. Interact.* 2003. Vol. 142, N 3. P. 223–237.
97. *Maynes J. T., Perreault K. R., Cherney M. M., Luu H. A., James M. N. G., Holmes Ch. F. B.* Crystal structure and mutagenesis of a protein phosphatase-1: calcineurin hybrid elucidate the role of the β 12- β 13 loop in inhibitor binding // *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279, N 41. P. 43198–43206.
98. *Maynes J. T., Luu H. A., Cherney M. M., Andersen R. J., Williams D., Holmes C. F., James M. N.* Crystal structures of proteinphosphatase-1 bound to motuporin and dihydromicrocystin-LA: elucidation of the mechanism of enzyme inhibition by cyanobacterial toxins // *J. Mol. Biol.* 2006. Vol. 356, N 1. P. 111–120.
99. *Herfindal L., Selheim F.* Microcystin produces disparate effects on liver cells in a dose dependent manner // *Mini Rev. Med. Chem.* 2006. Vol. 6, N 3. P. 279–285.
100. *Nishiwaki-Matsushima R., Nishiwaki S., Ohta T., Yoshizawa S., Suganuma M., Harada K., Watanabe M. F., Fujiki H.* Structure-function relationships of microcystins, liver tumor promoters, in interaction with protein phosphatase // *Jpn. J. Cancer Res.* 1991. Vol. 82, N 9. P. 993–996.
101. *Gulledge B. M., Aggena J. B., Huangb H. B., Nairnc A. C., Chamberlin A. R.* The microcystins and nodularins: cyclic polypeptide inhibitors of PP1 and PP2A // *Curr. Med. Chem.* 2002. Vol. 9, N 22. P. 1991–2003.
102. *Gulledge B. M., Aggen J. B., Chamberlin A. R.* Linearized and truncated microcystin analogues as inhibitors of protein phosphatases 1 and 2A // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2003a. Vol. 13, N 17. P. 2903–2906.
103. *Gulledge B. M., Aggen J. B., Eng H., Sweimeh K., Chamberlin A. R.* Microcystin analogues comprised only of Adda and a single additional amino acid retain moderate activity as PP1/PP2A inhibitors // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2003b. Vol. 13, N 17. P. 2907–2911.
104. *Humphrey W. F., Dalke A., Schulten K.* VMD — Visual molecular dynamics // *J. Mol. Graphics Modell.* 1996. Vol. 14. P. 33–38.
105. *Bagu J. R., Sykes B. D., Craig M. M., Holmes C. F. B.* A molecular basis for different interactions of marine toxins with protein phosphatase-1. Molecular models for bound motuporin, microcystins, okadaic acid, and calyculin A // *J. Biol. Chem.* 1997. Vol. 272, N 8. P. 5087–5097.
106. *Hastie C. J., Borthwick E. B., Morrison L. F., Codd G. A., Cohen P. T. W.* Inhibition of several protein phosphatases by a non-covalently interacting microcystin and a novel cyanobacterial peptide, nostocyclin // *Biochim. Biophys. Acta.* 2005. Vol. 1726. P. 187–193.
107. *Runnegar M. T. C., Falconer I. R., Silver J.* Deformation of isolated rat hepatocytes by a peptide hepatotoxin from the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* // *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 1981. Vol. 317, N 3. P. 268–272.
108. *Falconer I. R.* Cytoskeletal changes in hepatocytes induced by *Microcystis* toxins and their relation to hyperphosphorylation of cell proteins // *Chem. Biol. Interact.* 1992. Vol. 81, N 1–2. P. 181–196.
109. *Fujiki H., Suganuma M.* Tumor promotion by inhibitors of protein Z phosphatases 1 and 2A: the okadaic acid class of compounds // *Adv. Cancer Res.* 1993. Vol. 61. P. 143–194.
110. *Mountfort D. O., Holland P., Sprosen J.* Method for detecting classes of microcystins by combination of protein phosphatase inhibition assay and ELISA: comparison with LC-MS // *Toxicol.* 2005. Vol. 45. P. 199–206.
111. *Robinson N. A., Pace J. G., Matson C. F., Miura G. A., Lawrence W. B.* Tissue distribution, excretion and hepatic biotransformation of microcystin-LR in mice // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1991. Vol. 256, N 1. P. 176–182.
112. *Dixit R. B., Suseela M. R.* Cyanobacteria: Potential candidates for drug discovery // *Antonie van Leeuwenhoek.* 2013. Vol. 103. P. 947–961.
113. *Tan L. T.* Bioactive natural products from marine cyanobacteria for drug discovery // *Phytochemistry.* 2007. Vol. 68, N 7. P. 954–979.
114. *Furey A., Allis O., Ortea P. M., Lehane M., James K. J.* Hepatotoxins: Context and chemical determination // *Seafood and freshwater toxins. Pharmacology, physiology and detection* / ed. by L. M. Botana. Boca Raton, 2008. P. 844–886.
115. *Rodriguez-Navarro A. J., Berde Ch. B., Wiedmaier G., Mercado A., Garcia C., Iglesias V., Zurakowski D.* Comparison of neosaxitoxin versus bupivacaine via port infiltration for postoperative analgesia following laparoscopic cholecystectomy. A randomized, double-blind trial // *Region. Anesth. Pain M.* 2011. Vol. 36, N 2. P. 103–109.
116. *Carmichael W. W.* The cyanotoxins // *Adv. Bot. Res.* 1997. Vol. 27. P. 211–256.

117. *Sainis I., Fokas D., Vareli K., Tzakos A. G., Kounnis V., Briasoulis E.* Cyanobacterial cyclopeptides as lead compounds to novel targeted cancer drugs // *Mar. Drugs*. 2010. Vol. 8. P. 629–657.
118. *Fischer W. J., Altheimer S., Cattori V., Meier P. J., Dietrich D. R., Hagenbuch B.* Organic anion transporting polypeptides expressed in liver and brain mediate uptake of microcystin // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2005. Vol. 203. P. 257–263.
119. *Monks N. R., Liu S., Xu Y., Yu H., Bendelow A. S., Moscow J. A.* Potent toxicity of the phosphatase inhibitor microcystin LR and microcystin analogues in OATPB1- and OATPB3-expressing HeLa cells // *Mol. Cancer Ther.* 2007. Vol. 6. P. 587–598.
120. *Amado L. L., Monserrat J. M.* Oxidative stress generation by microcystins in aquatic animals: why and how // *Environ. Int.* 2010. Vol. 36. P. 226–235.
121. *Meriluoto J., Codd G. A.* Toxic: Cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis. Turku: Åbo Akademi University Press, 2005. 149 p.
122. *Pierce R. H., Kirkpatrick G. J.* Innovative techniques for harmful algal toxin analysis // *Environ. Toxicol. Chem.* 2001. Vol. 20, N 1. P. 107–114.
123. *Chu F. S., Fan T. L.* Screening of paralytic shellfish poisoning toxins in naturally occurring samples with three different direct competitive enzyme-linked immunosorbent assays // *J. Agric. Food. Chem.* 1996. Vol. 44. P. 4043–4047.
124. *Huang X., Hsu K. H., Chu F. S.* Direct competitive enzyme-linked immunosorbent assay for saxitoxin and neosaxitoxin // *J. Agric. Food. Chem.* 1996. Vol. 44. P. 1029–1035.
125. *Micheli L., Stefano di S., Moscone D., Palleschi G., Marini S., Coletta M., Draisci R., Quadri delli F.* Production of antibodies and development of highly sensitive formats of enzyme immunoassay for saxitoxin analysis // *Anal. Bioanal. Chem.* 2002. Vol. 373. P. 678–684.
126. *Usleber E., Donald M., Straka M., Mürtlbauer E.* Comparison of enzyme immunoassay and mouse bioassay for determining paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish // *Food Addit. Contam.* 1997. Vol. 14. P. 193–198.
127. *Dolah van F. M., Ramsdell J. S.* Review and assessment of in vitro detection methods for algal toxins // *J. AOAC Int.* 2001. Vol. 84. P. 1617–1625.
128. *Etheridge S., Deeds J., Hall S., White K., Flewelling L., Abbott J., Landsberg J., Conrad S., Bodager D., Jackow G.* Detection methods and their limitations: PSP toxins in the southern puffer fish *Sphoeroides nephelus* responsible for human poisoning events in Florida in 2004 // *Afr. J. Mar. Sci.* 2006. Vol. 28. P. 383–387.
129. *Egmond van H. P., Top van den H. J., Paulsch W. E., Goenaga X., Vieytes M. R.* Paralytic shellfish poison reference materials: An intercomparison of methods for the determination of saxitoxin // *Food Addit. Contam.* 1994. Vol. 11. P. 39–56.
130. *Villatte F., Schulze H., Schmid R. D., Bachmann T. T.* A disposable acetylcholinesterase-based electrode biosensor to detect anatoxin-a(s) in water // *Anal. Bioanal. Chem.* 2002. Vol. 372. P. 322–326.
131. *Lawton L. A., Chambers H., Edwards C., Nwaopara A. A., Healy M.* Rapid detection of microcystins in cells and water // *Toxicol.* 2010. Vol. 55. P. 973–978.
132. *Nicholson B. C., Burch M. D.* Evaluation of analytical methods for detection quantification of cyanotoxins in relation to Australian drinking water guidelines. Canberra: National Health and Medical Research Council of Australia, 2001. 57 p.
133. *Oehrle A. S., Westrick J.* Analysis of various cyanobacterial toxins by LC-MS // *LCGC Europe*. 2002. Vol. 15, N 11. P. 728–733.
134. *Metcalfe J. S., Beattie K. A., Ressler J., Gerbersdorf S., Pflugmacher S., Codd G. A.* Cross-reactivity and performance assessment of four microcystin immunoassays with detoxication products of the cyanobacterial toxin, microcystin-LR // *J. Water Supply Res. T.* 2002. Vol. 51, N 3. P. 145–151.
135. *Ward C. J., Beattie K. A., Lee E. Y. C., Codd G. A.* Colorimetric protein phosphatase inhibition assay of laboratory strains and natural blooms of cyanobacteria: comparisons with high-performance liquid chromatographic analysis for microcystins // *FEMS Microbiol. Lett.* 1997. Vol. 153. P. 465–473.
136. *Wirsing B., Flury T., Wiedner C., Neumann U., Weckesser J.* Estimation of the microcystin content in cyanobacterial field samples from German lakes using the colorimetric protein-phosphatase inhibition assay and RP-HPLC // *Environ. Toxicol.* 1999. Vol. 14. P. 23–29.
137. *Heresztyn T., Nicholson B. C.* Determination of cyanobacterial hepatotoxins directly in water using a protein phosphatase inhibition assay // *Water Res.* 2001. Vol. 35. P. 3049–3056.
138. *Oliveira A. C. P., Magalhães V. F., Soares R. M., Azevedo S. M. F. O.* Influence of drinking water composition on quantitation and biological activity of dissolved microcystin (cyanotoxin) // *Environ. Toxicol.* 2005. Vol. 20. P. 126–130.
139. *Tsuji K., Masui H., Uemura H., Mori Y., Harada K.-I.* Analysis of microcystins in sediments using MMPB method // *Toxicol.* 2001. Vol. 39, N 5. P. 687–692.

140. Sano T., Nohara K., Shiraiishi F., Kaya K. A method for micro-determination of total microcystin content in waterblooms of cyanobacteria (blue-green algae) // Intern. J. Environ. Anal. Chem. 1992. Vol. 49. P. 163–170.
141. Harada K.-I., Murata H., Qiang Z., Suzuki M., Kondo F. Mass spectrometric screening method for microcystins in cyanobacteria // Toxicon. 1996b. Vol. 34. P. 701–710.
142. Kaya K., Sano T. Total microcystin determination using erythro-2-methyl-3-(methoxy-d3)-4-phenylbutyric acid (MMPB-d3) as the internal standard // Anal. Chim. Acta. 1999. Vol. 386. P. 107–112.
143. McElhiney J., Lawton L. A. Detection of the cyanobacterial hepatotoxins microcystins // Toxicol. App. Pharmacol. 2005. Vol. 203, N 3. P. 219–230.
144. Lawton L. A., Edwards C., Codd G. A. Extraction and high-performance liquid chromatographic method for the determination of microcystins in raw and treated waters // Analyst. 1994. Vol. 119, N 7. P. 1525–1530.
145. Harada K.-I. Chemistry and detection of microcystins // Toxic microcystins / eds M. F. Watanabe, K.-I. Harada, W. W. Carmichael, H. Fujiki. Boca Raton, 1996. P. 103–148.
146. Harada K.-I., Suzuki M., Dahlem A. M., Beasley V. R., Carmichael W. W., Rinehart K. L. Jr. Improved method for purification of toxic peptides produced by cyanobacteria // Toxicon. 1988. Vol. 26. P. 433–439.
147. Rapala J., Erkoma K., Kukkonen J., Sivonen K., Lahti K. Detection of microcystins with protein phosphatase inhibition assay, high-performance liquid chromatography-UV detection and enzyme-linked immunosorbent assay. Comparison of methods // Anal. Chim. Acta. 2002. Vol. 466. P. 213–231.
148. Meriluoto J., Eriksson J. E., Harada K.-I., Dahlem A. M., Sivonen K., Carmichael W. W. Internal surface reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of the cyanobacterial peptide toxins microcystin-LA, -LR, -YR, -RR and nodularin // J. Chromatogr. 1990. Vol. 509. P. 390–395.
149. Spoof L., Karlsson K., Meriluoto J. High-performance liquid chromatographic separation of microcystins and nodularin, cyanobacterial peptide toxins, on C18 and amide C16 sorbents // J. Chromatogr. (A). 2001. Vol. 909. P. 225–236.
150. Spoof L., Meriluoto J. Rapid separation of microcystins and nodularin using a monolithic silica C18 column // J. Chromatogr. (A). 2002. Vol. 947. P. 237–245.
151. ISO 20179:2005. Water quality – Determination of microcystins – Method using solid phase extraction (SPE) and high performance liquid chromatography (HPLC) with ultraviolet (UV) detection. Technical Committee ISO/TC 147, 2005. 24 p.
152. Boyer G. L., Janiszewski J. J., Hu X. A comparison of electrochemical methods for the analysis of PSP toxins // Harmful algae / eds B. Reguera, J. Blanco, M. L. Fernández, T. Wyatt. Santiago de Compostela: Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, 1998. P. 515–518.
153. Gago-Martinez A., Leão J. M., Piñeiro N., Carballal E., Vaquero E., Nogueiras M., Rodriguez-Vazquez J. A. An application of capillary electrophoresis for the analysis of algal toxins from the aquatic environment // Int. J. Environ. An. Ch. 2003. Vol. 83. P. 443–456.
154. Wu Y., Ho A. Y., Qian P. Y., Leung K. S., Cai Z., Lin J. M. Determination of paralytic shellfish toxins in dinoflagellate *Alexandrium tamarense* by using isotachopheresis/capillary electrophoresis // J. Sep. Sci. 2006. Vol. 29. P. 399–404.
155. Wong H. S., Hindin E. Detecting an algal toxin by high-pressure liquid chromatography // J. Am. Water Works Assoc. 1982. Vol. 74. P. 528–529.
156. Harada K.-I., Kimura I., Ogawa K., Suzuki M., Dahlem A. M., Beasley V. R., Carmichael W. W. A new procedure for the analysis and purification of naturally occurring anatoxin-a from the blue-green alga *Anabaena flos-aquae* // Toxicon. 1989. Vol. 27. P. 1289–1296.
157. Sanchez J. A., Otero P., Alfonso A., Ramos V., Vasconcelos V., Aráoz R., Molgó J., Vieytes M. R., Botana L. M. Detection of anatoxin-a and three analogs in *Anabaena spp.* cultures: New fluorescence polarization assay and toxin profile by LC-MS/MS // Toxins. 2014. Vol. 6. P. 402–415.
158. Ojanpera I., Vuori E., Himberg K., Warris M., Niinivarra K. Facile detection of anatoxin-a in algal material by thin-layer chromatography with Fast Black K salt // Analyst. 1991. Vol. 116. P. 265–267.
159. Al-Layl K. J., Poon G. K., Codd G. A. Isolation and purification of peptide and alkaloid toxins from *Anabaena flos-aquae* using high performance thin-layer chromatography // J. Microbiol. Methods. 1988. Vol. 7. P. 251–258.
160. Boyer G., Dyle J. Harmful algal blooms. A newly emerging pathogen in water. URL: http://www.cws.msu.edu/documents/HarmfulAlgalBloomsWhitePaper_Boyer_Dyble.pdf (дата обращения: 3.07.2017).
161. Pereira P., Onodera H., Andrinolo D., Franca S., Araújo F., Lagos N., Oshima Y. Paralytic shellfish toxins in the freshwater cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae*, isolated from Montargil reservoir, Portugal // Toxicon. 2000. Vol. 38. P. 1689–1702.

162. Liu Y., Chen W., Li D., Shen Y., Li G., Liu Y. First report of Antoxins in China — waterblooms of toxigenic *Aphanizomenon flos-aquae* in Lake Dianchi // *Ecotox. Environ. Safe.* 2006. Vol. 65. P. 84–92.
163. Dell'Aversano C., Hess P., Quilliam M. A. Hydrophilic interaction liquid chromatography-mass spectrometry for the analysis of paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins // *J. Chromatogr. (A)*. 2005. Vol. 1081. P. 190–201.
164. Papageorgiou J., Nicholson B. C., Linke T. A., Kapralos C. Analysis of cyanobacterial-derived saxitoxins using high-performance ion exchange chromatography with chemical oxidation/fluorescence detection // *Environ. Toxicol.* 2005. Vol. 20, N 6. P. 549–559.
165. Tatsuno R., Yamaguchi K., Takatani T., Arakawa O. RT-PCR- and MALDI-TOF mass spectrometry-based identification and discrimination of isoforms homologous to pufferfish saxitoxin- and tetrodotoxin-binding protein in the plasma of non-toxic cultured pufferfish (*takifugu rubripes*) // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2013. Vol. 77, N 1. P. 208–212.
166. Roegner A. F., Schirmer M. P., Puschner B., Brena B., Gonzalez-Sapienza G. Rapid quantitative analysis of microcystins in raw surface waters with MALDI MS utilizing easily synthesized internal standards // *Toxicol.* 2014. Vol. 78. P. 94–102.
167. Kadlec K. M., Turczyn A., Grant J. Comparative analysis of ELISA and MALDI-TOF mass spectrometry methods for microcystins in freshwater samples // *FASEB J.* 2016. Vol. 30, N 1. Supplement 1122.1.
168. Poon G. K., Griggs L. J., Edwards C., Beattie K. A., Codd G. A Liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry of cyanobacterial toxins // *J. Chromatogr. (A)*. 1993. Vol. 628. P. 215–233.
169. Spoof L. Microcystins and nodularins // *Toxic: cyanobacterial monitoring and cyanotoxins analysis* / eds J. Meriluoto, G. A. Codd. Abo, 2005. P. 15–39.
170. Meriluoto J., Spoof L. Cyanotoxins: sampling, sample processing and toxin uptake // *Cyanobacterial harmful algal blooms: State of the science and research needs. Advances in experimental medicine and biology* / ed. by H. H. Kenneth. Berlin, 2008. Vol. 619. P. 483–499.
171. Reyero M., Cacho E., Martínez A., Vázquez J., Marina A., Fraga S., Franco J. M. Evidence of saxitoxin derivatives as causative agents in the 1997 mass mortality of monk seals in the Cape Blanc peninsula // *Nat. Toxins.* 1999. Vol. 7. P. 311–315.
172. Ito K., Asakawa M., Sida Y., Miyazawa K. Occurrence of paralytic shell fish poison (PSP) in the star fish *Asterina pectinifera* collected from the Kure bay, Hiroshima Prefecture, Japan // *Toxicol.* 2003. Vol. 41. P. 291–295.
173. Dahlmann J., Budakowski W. R., Luckas B. Liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry based methods for the simultaneous determination of algal and cyanobacterial toxins in phytoplankton from marine waters and lakes followed by tentative structural elucidation of microcystins // *J. Chromatogr. (A)*. 2003. Vol. 994. P. 45–57.
174. Maizels M., Budde W. L. LC/MS method for the determination of cyanobacteria toxins in water // *Anal. Chem.* 2004. Vol. 76. P. 1342–1351.
175. James K. J., Crowley J., Hamilton B., Lehane M., Skulberg O., Furey A. Anatoxins and degradation products, determined using hybrid quadrupole time-of-flight and quadrupole ion-trap mass spectrometry: forensic investigations of cyanobacterial neurotoxin poisoning // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2005. Vol. 19, N 9. P. 1167–1175.
176. Furey A., Crowley J., Hamilton B., Lehane M., James K. J. Strategies to avoid the mis-identification of anatoxin-a using mass spectrometry in the forensic investigation of acute neurotoxic poisoning // *J. Chromatogr. (A)*. 2005. Vol. 1082. P. 91–97.
177. Dörr F. A., Rodríguez V., Molica R., Henriksen P., Krock B., Pinto E. Methods for detection of anatoxin-a(s) by liquid chromatography coupled to electrospray ionization-tandem mass spectrometry // *Toxicol.* 2010. Vol. 55. P. 92–99.
178. Diehnelt C. W., Peterman S. M., Budde W. L. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry and accurate m/z measurements of cyclic peptide cyanobacteria toxins // *Trends Anal. Chem.* 2005. Vol. 24, N 7. P. 622–634.
179. Bogialli S., Bruno M., Curini R., Corcia di A., Fanali C., Laganà A. Monitoring algal toxins in lake water by liquid chromatography tandem mass spectrometry // *Environ. Sci. Technol.* 2006. Vol. 40. P. 2917–2923.
180. Bruno M., Melchiorre S., Messineo V., Volpi F., Corcia di A., Aragona I., Guglielmone G., Paolo di C. M. C., Ferranti P., Gallo P. Microcystin detection in contaminated fish from Italian lakes using ELISA immunoassays and LC-MS/MS analysis // *Handbook on cyanobacteria: Biochemistry, biotechnology and applications* / eds P. M. Gault, H. J. Marler. New York, 2009. P. 191–210.
181. Neffling M.-R., Spoof L., Quilliam M., Meriluoto J. LC-ESI-Q-TOF-MS for faster and accurate determination of microcystins and nodularins in serum // *J. Chromatogr. (B)*. 2010. Vol. 878, N 26. P. 2433–2441.

182. Чернова Е. Н., Русских Я. В., Подольская Е. П., Жаковская З. А., Царёв В. С., Кухарева Г. И. Оптимизация параметров масс-спектрометрического анализа цианотоксинов на гибридном хромато-масс-спектрометре LTQ Orbitrap XL (Thermo Finnigan) // Науч. приборостроение. 2013. Т. 23, № 14. С. 20–29.

183. Чернова Е. Н., Русских Я. В., Подольская Е. П., Жаковская З. А. Определение микроцистинов и анатоксина-а методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии низкого разрешения // Науч. приборостроение. 2016. Т. 26, № 1. С. 11–25.

184. Русских Я. В., Чернова Е. Н., Воякина Е. Ю., Жаковская З. А. Определение цианотоксинов в водной матрице методом высокоэффективной жидкостной хроматографии — масс-спектрометрии высокого разрешения // Изв. СПбГТИ (ТУ). 2012. № 17 (43). С. 61–66.

185. Чернова Е. Н., Русских Я. В., Воякина Е. Ю., Жаковская З. А. Исследования природных экотоксикантов — метаболитов сине-зелёных водорослей в разнотипных водоёмах Северо-Запада России // Рег. экология. 2014. Т. 35, № 1–2. С. 88–95.

186. Чернова Е. Н., Русских Я. В., Афонина Е. И., Кельцьева О. А., Островский В. А., Подольская Е. П., Жаковская З. А. Масс-спектрометрический анализ микроцистинов из биомассы цианобактерий. Оптимизация процедуры пробоподготовки // Экологич. химия. 2016. Т. 25 (4). С. 204–216.

References

1. Rasmussen B., Fletcher I. R., Brocks J. J., Kilburn M. R. Reassessing the first appearance of eukaryotes and cyanobacteria. *Nature*, 2008, vol. 455 (7216), pp. 1101–1104.
2. Stanier R. Y., Siström W. R., Hansen T. A., Whitton B. A., Castenholz R. W., Pfennig N., Gorlenko V. N., Kondratieva E. N., Eimhjellen K. E., Whittenburg R., Gherna R. L., Truper H. G. Proposal to place nomenclature of cyanobacteria (blue-green algae) under rules of international code of nomenclature of bacteria. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 1978, vol. 28, pp. 335–336.
3. Papke R. T., Ramsing N. B., Bateson M. M., Ward D. M. Geographical isolation in hot spring cyanobacteria. *Environ. Microbiol.*, 2003, vol. 5, pp. 650–659.
4. Comte K., Sabacka M., Carre-Mlouka A., Elster J., Komarek J. Relationships between the Arctic and the Antarctic cyanobacteria; three Phormidium-like strains evaluated by a polyphasic approach. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 2007, vol. 59, pp. 366–376.
5. Apeldoorn M. E., Egmond H. P., Speijers G. J. A., Bakker G. J. I. Toxins of cyanobacteria. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2007, vol. 51, pp. 7–60.
6. Codd G. A., Morrison L. F., Metcalf J. S. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2005, vol. 203, pp. 264–272.
7. Paerl H. W., Huisman J. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environ. Microbiol. Rep.*, 2009, vol. 1, pp. 27–37.
8. Davis T. W., Berry D. L., Boyer G. L., Gobler C. J. The effects of temperature and nutrients on the growth and dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms. *Harmful Algae.*, 2009, vol. 8, pp. 715–725.
9. Toxic Cyanobacteria. *Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*. Eds I. Chorus, J. Bartram. London, WHO, 1999. 432 p.
10. Falconer I. R., Humpage A. R. Health risk assessment of cyanobacterial (blue-green algae) toxins in drinking water. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2005, vol. 2, no 1, pp. 43–50.
11. Pearson L., Mihali T., Moffitt M., Kellmann R., Neilan B. On the chemistry, toxicology and genetics of the cyanobacterial toxins, microcystin, nodularin, saxitoxin and cylindrospermopsin. *Mar. Drugs*, 2010, vol. 8, pp. 1650–1680.
12. Guidelines for drinking water quality. 4th ed. World Health Organization, 2011. Available at: http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/2011/dwq-guidelines/en (accessed: 3.07.2017).
13. Lürling M., Waajen G., Senerpont Domis de L. N. Evaluation of several end-of-pipe measures proposed to control cyanobacteria. *Aquat. Ecol.*, 2016, vol. 50, pp. 499–519.
14. Matthijs H. C. P., Jančula D., Visser P. M., Maršálek B. Existing and emerging cyanocidal compounds: new perspectives for cyanobacterial bloom mitigation. *Aquat. Ecol.*, 2016, vol. 50, pp. 443–460.
15. Stroom J., Kardinaal W. E. A. How to combat cyanobacterial blooms: strategy toward preventive lake restoration and reactive control measures. *Aquat. Ecol.*, 2016, vol. 50, pp. 541–576.
16. Trifonova I. S., Pavlova O. A. Phytoplankton succession in urban water bodies of St. Petersburg as an indicator of their ecological conditions. *Limnol. Rev.*, 2008, vol. 8, no 3, pp. 137–141.
17. Matishov G. G., Kovaleva G. V. Tsvetenie vody v vodoemakh iuga Rossii i sboi v vodosnabzhenii (na primere g. Volgodonska) [Algal bloom in reservoirs of the south of Russia and water supply malfunctions (by the example of the city Volgodonsk)]. *Vestn. IuNTs RAN [Bull. Southern Scientific Center RAS]*, 2010, vol. 6, no 1, pp. 71–79. (In Russian)

18. Matishov G. G., Matishov D. G., Fushetey T. V., Rudnev M. I., Soyer V. G., Zymakov D. V. Obnaruzhenie toksinov tsianoprokariot v planktone nizhnego Dona metodom mass-spektrometrii [On the identification of cyanoprokaryote toxins in the Lower Don river phytoplankton with the help of mass-spectrometry method]. *Vestn. IuNTs RAN [Bull. Southern Scientific Center RAS]*, 2006, vol. 2, no 2, pp. 75–78. (In Russian)
19. Aleksandrov S. V. Vliianie “tsveteniia” sine-zelenykh vodoroslei na ekologicheskoe sostoianie Kurshskogo zaliva [Impact of blue-green algae “nuisance” on ecological status of the Couronian Lagoon]. *Voda: khimii i ekologiiia [Water: chemistry and ecology]*, 2009, no 4, pp. 2–6. (In Russian)
20. Aráoz R., Molgó J., Marsac de N. T. Neurotoxic cyanobacterial toxins. *Toxicon*, 2010, vol. 56, no 5, pp. 813–828.
21. Toxins. Potential chemical weapons from living organisms. Organization for the prohibition of chemical weapons. Available at: <https://www.opcw.org/protection/types-of-chemical-agent/toxins> (accessed: 3.07.2017).
22. Antonov N. *Khimicheskoe oruzhie na rubezhe dvukh stoletii [Chemical weapons at the turn of two centuries]*. Moscow, Progress Publ., 1994. 174 p. (In Russian)
23. Wiese M., D’Agostino P. M., Mihali T. K., Moffitt M. C., Neilan B. A. Neurotoxic alkaloids: Saxitoxin and its analogs. *Mar. Drugs*, 2010, vol. 8, no 7, pp. 2185–2211.
24. Shumway S. E. Phycotoxin-related shellfish poisoning: Bivalve molluscs are not the only vectors. *Rev. Fish. Sci.*, 1995, vol. 3, pp. 1–31.
25. Ibelings B. W., Chorus I. Accumulation of cyanobacterial toxins in freshwater “seafood” and its consequences for public health: A review. *Environ. Pollut.*, 2007, vol. 150, pp. 177–192.
26. Botana L. M. *Seafood and freshwater toxins: Pharmacology, physiology, and detection, second edition*. New York, CRC Press, 2000. 816 p.
27. Shimizu Y. Chemistry and mechanism of action. *Seafood and freshwater toxins*. Ed. by L. M. Botana. New York, Marcel Dekker, 2000, pp. 151–172.
28. Hall S., Reichardt P. B., Neve R. A. Toxin extracted from an Alaskan isolate of *Protogonyaulax* sp. *Biochem. Bioph. Res. Co.*, 1980, vol. 97, no 2, pp. 649–653.
29. Koehn F. E., Hall S., Wichmann C. F., Schnoes H. K., Reichardt P. B. Dinoflagellate neurotoxins related to saxitoxin: structure and latent activity of toxins B1 and B2. *Tetrahedron Lett.*, 1982, vol. 23, no 22, pp. 2247–2248.
30. Shimizu Y., Hsu C. P., Fallon W. E., Oshima Y., Miura I., Nakanishi K. The structure of neosaxitoxin. *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, vol. 100, no 21, pp. 6791–6793.
31. Rogers R. S., Rapoport H. The pKa’s of saxitoxin. *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, vol. 102, no 24, pp. 7335–7339.
32. Schantz E. J., Ghazarossian V. E., Schnoes H. K., Strong F. M., Springer J. P., Pezzanite J. O., Clardy J. The structure of saxitoxin. *J. Am. Chem. Soc.*, 1975, vol. 97, no 5, pp. 1238–1239.
33. Oshima Y. Postcolumn derivatization liquid chromatographic method for paralytic shellfish toxins. *J. AOAC Int.*, 1995, vol. 78, pp. 528–532.
34. EFSA. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the European commission on marine biotoxins in shellfish — saxitoxin group. *EFSA J.*, 2009, vol. 1019, pp. 1–76.
35. Botana L. M., Hess Ph., Munday R., Nathalie A., DeGrasse S. L., Feeley M., Suzuki T., Berg van den M., Fattori V., Gamarro E. G., Tritscher A., Nakagawa R., Karunasagar I. Derivation of toxicity equivalency factors for marine biotoxins associated with Bivalve Molluscs. *Trends in Food Science & Technology*, 2017, vol. 59, pp. 15–24.
36. Chorus I. *Current approaches to cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries*. Dessau, Umweltbundesamt, 2012. 147 p.
37. Kao C. Y., Walker S. E. Active groups of saxitoxin and tetrodotoxin as deduced from action of saxitoxin analogs on frog muscle and squid axon. *J. Physiol.*, 1982, vol. 323, no 1, pp. 619–637.
38. Strichartz G. Structural determinants of the affinity of saxitoxin for neuronal sodium channels. Electrophysiological studies on frog peripheral nerve. *J. Gen. Physiol.*, 1984, vol. 84, no 2, pp. 281–305.
39. Kao C. Y., Kao P. N., James-Kracke M. R., Koehn F. E., Wichmann C. F., Schnoes H. K. Actions of epimers of 12-(OH)-reduced saxitoxin and 11-(OSO₃)-saxitoxin on squid axon. *Toxicon*, 1985, vol. 23, pp. 647–655.
40. Noda M., Suzuki H., Numa S., Stühmer W. A single point mutation confers tetrodotoxin and saxitoxin insensitivity on the sodium channel II. *FEBS Lett.*, 1989, vol. 259, no 1, pp. 213–216.
41. Terlau H. S., Heinemann H., Stühmer W., Pusch M., Conti F., Imoto K., Numa S. Mapping the site of block by tetrodotoxin and saxitoxin on sodium channel-II. *FEBS Lett.*, 1991, vol. 293, pp. 93–96.
42. Kontis K. J., Goldin A. L. Site-directed mutagenesis of the putative pore region of the rat IIA sodium channel. *Mol. Pharmacol.*, 1993, vol. 43, no 4, pp. 635–644.

43. Lipkind G. M., Fozzard H. A. A structural model of the tetrodotoxin and saxitoxin binding site of the Na channel. *Biophys. J.*, 1994, vol. 66, pp. 1–13.
44. Devlin J. P., Edwards O. E., Gorham P. R., Hunter M. R., Pike R. K., Stavric B. Anatoxin-a, a toxic alkaloid from *Anabaena flos-aquae* NCR-44h. *Can. J. Chem.*, 1977, vol. 55, pp. 1367–1371.
45. Ballot A., Fastner J., Lentz M., Wiedner C. First report of anatoxin-a-producing cyanobacterium *Aphanizomenon issatschenkoi* in northeastern Germany. *Toxicon*, 2010a, vol. 56, pp. 964–971.
46. Gugger M., Lenoir S., Berger C., Ledreux A., Druart J. C., Humbert J. F., Guette C., Bernard C. First report in a river in France of the benthic cyanobacterium *Phormidium favosum* producing anatoxin-a associated with dog neurotoxicosis. *Toxicon*, 2005, vol. 45, pp. 919–928.
47. Lyra C., Suomalainen S., Gugger M., Vezie Ch., Sundman P., Paulin L., Sivonen K. Molecular characterization of planktic cyanobacteria of *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* and *Planktothrix* genera. *Int. J. Syst. Evol. Microb.*, 2001, vol. 51, pp. 513–526.
48. Rantala-Ylinen A., Kana S., Wang H., Rouhiainen L., Wahlsten M., Rizzi E., Berg K., Gugger M., Sivonen K. ANTX synthetase gene cluster of the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain 37 and molecular methods to detect potential producers. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2011, vol. 77, pp. 7271–7278.
49. Botana L. *Phycotoxins. Chemistry and biochemistry*. Ames, Blackwell Publishing, 2007. 345 p.
50. WHO. *Guidelines for safe recreational water environments — vol. 1: Coastal and fresh waters*. Geneva, World Health Organization, 2003. 253 p.
51. Huisman J., Matthijs H. C. P., Visser P. M. *Harmful cyanobacteria*. Dordrecht, Springer, 2005. 241 p.
52. Wonnacott S., Gallagher T. The chemistry and pharmacology of anatoxin-a and related homotropans with respect to nicotinic acetylcholine receptors. *Mar. Drugs*, 2006, vol. 4, pp. 228–254.
53. Swanson K. L., Aronstam R. S., Wonnacott S., Rapoport H., Albuquerque E. X. Nicotinic pharmacology of anatoxin analogs. I. Side chain structure-activity relationships at peripheral agonist and noncompetitive antagonist sites. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1991, vol. 259, no 1, pp. 377–386.
54. Wonnacott S., Jackman S., Swanson K. L., Rapoport H., Albuquerque E. X. Nicotinic pharmacology of anatoxin analogs. II. Side chain structure-activity relationships at neuronal nicotinic ligand binding sites. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1991, vol. 259, no 1, pp. 387–391.
55. Carmichael W. W., Gorham P. R. Anatoxins from clones of *Anabaena flos-aquae* isolated from lakes of western Canada. *Mitt. Int. Ver. Limnol.*, 1978, vol. 21, pp. 285–295.
56. Edwards C., Beattie K. A., Scrimgeour C. M., Codd G. A. Identification of anatoxin-a in benthic cyanobacteria (blue-green algae) and in associated dog poisonings at Loch Insh, Scotland. *Toxicon*, 1992, vol. 30, no 10, pp. 1165–1175.
57. Cadel-Six S., Peyraud-Thomas C., Brient L., Marsac de N. T., Rippka R., Mejean A. Different genotypes of anatoxin-producing cyanobacteria co-exist in the Tarn River, France. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2007, vol. 73, no 23, pp. 7605–7614.
58. Krienitz L., Ballot A., Kotut K., Wiegand C., Pütz S., Metcalf J. S., Codd G. A., Pflugmacher S. Contribution of hot spring cyanobacteria to the mysterious deaths of Lesser Famingos at lake Bogoria, Kenya. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 2003, vol. 43, no 2, pp. 141–148.
59. Fawell J. K., Mitchell R. E., Hill R. E., Everett D. J. The toxicity of cyanobacterial toxins in the mouse: II anatoxin-a. *Hum. Exp. Toxicol.*, 1999, vol. 18, pp. 168–173.
60. Burch M. D. Effective doses, guidelines & regulations. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2008, vol. 619, pp. 831–853.
61. Farrer D., Counter M., Hillwig R., Cude C. Health-based cyanotoxin guideline values allow for cyanotoxin-based monitoring and efficient public health response to cyanobacterial blooms. *Toxins*, 2015. Vol.7, pp. 457–477.
62. Roe S. J., Stockman R. A. A two-directional approach to the anatoxin alkaloids: second synthesis of homoanatoxin and efficient synthesis of anatoxin-a. *Chem. Commun.*, 2008, vol. 29, pp. 3432–3434.
63. Mahmood N. A., Carmichael W. W. The pharmacology of anatoxin-a(s), a neurotoxin produced by the freshwater cyanobacterium *Anabaena flos-aquae* NRC 525-17. *Toxicon*, 1986, vol. 24, no 5, pp. 425–434.
64. Henriksen P., Carmichael W. W., An J., Moestrup O. Detection of an anatoxin-a(s)-like anticholinesterase in natural blooms and cultures of cyanobacteria/blue-green algae from Danish lakes and in stomach contents of poisoned birds. *Toxicon*, 1997, vol. 35, pp. 901–903.
65. Molica R. J. R., Oliveira E. J. A., Carvalho P. V. V. C., Costa A. N. S. F., Cunha M. C. C., Melo G. L., Azevedo M. F. O. Occurrence of saxitoxins and an anatoxin-a(s)-like anticholinesterase in a Brazilian drinking water supply. *Harmful Algae*, 2005, vol. 4, no 4, pp. 743–753.
66. Cook W. O., Beasley V. R., Dahlem A. M., Dellinger J. A., Harlin K. S., Carmichael W. W. Comparison of effects of anatoxin-a(s) and paraoxon, physostigmine and pyridostigmine on mouse brain cholinesterase activity. *Toxicon*, 1988, vol. 26, no 8, pp. 750–753.

67. Matsunaga S., Moore R. E., Niemczura W. P., Carmichael W. W. Anatoxin-a(s), a potent anticholinesterase from *Anabena flos-aquae*. *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, vol. 111, no 20, pp. 8021–8023.
68. Carmichael W. W., Falconer I. R. Disease related to freshwater algal blooms. *Advances in botanical research*. Ed. by J. A. Callow. London, Academic Press, 1993, pp. 187–210.
69. Carmichael W. W., Mahmood N. A., Hyde E. G. Natural toxins from cyanobacteria (blue-green algae). *Marine toxins, origin, structure and molecular pharmacology*. Eds S. Hall, G. Strichartz. Washington, American Chemical Society, 1990, vol. 418, pp. 87–106.
70. Onodera H., Oshima Y., Henriksen P., Yasumoto T. Confirmation of anatoxin-a(s), in the cyanobacterium *Anabaena lemmermannii*, as the cause of bird kills in Danish lakes. *Toxicon*, 1997, vol. 35, no 11, pp. 1645–1648.
71. Mahmood N. A., Carmichael W. W., Pfahler D. Anticholinesterase poisoning in dogs from cyanobacterial (blue green algae) bloom dominated by *Anabaena flos-aquae*. *Am. J. Vet. Res.*, 1998, vol. 49, pp. 500–503.
72. Meriluoto J., Spoof L., Codd G. A. *Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis*. West Sussex, Wiley, 2017. 576 p.
73. Welker M. Cyanobacterial hepatotoxins: Chemistry, biosynthesis and occurrence. *Seafood and freshwater toxins. Pharmacology, physiology and detection*. Ed. by L. M. Botana. Boca Raton, 2008, pp. 825–844.
74. Mazur-Marzec H., Spoof L., Kobos J., Pliński M., Meriluoto J. Cyanobacterial hepatotoxins, microcystins and nodularins, in fresh and brackish waters of the Pomeranian Province, northern Poland. *Oceanol. Hydrobiol. St.*, 2008, vol. 37, no 4, pp. 3–21.
75. Botana L. *Seafood and freshwater toxins. Pharmacology, physiology and detection*. Boca Raton, CRC Press, 2008. 941 p.
76. Diehnelt C. W., Dugan N. R., Peterman S. M., Budde W. L. Identification of microcystin toxins from a strain of *Microcystis aeruginosa* by liquid chromatography introduction into a hybrid linear ion trap-Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer. *Anal. Chem.*, 2006, vol. 78, pp. 501–512.
77. Harada K. I., Tsuji K., Watanabe M. F., Kondo F. Stability of microcystins from cyanobacteria III. Effect of pH and temperature. *Phycologia*, 1996a, vol. 35, pp. 83–88.
78. Metcalf J. S., Codd G. A. Microwave oven and boiling waterbath extraction of hepatotoxins from cyanobacterial cells. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2000, vol. 184, no 2, pp. 241–246.
79. Gagala I., Mankiewicz-Boczek J. The natural degradation of microcystins (cyanobacterial hepatotoxins) in fresh water — the future of modern treatment systems and water quality improvement. *Pol. J. Environ. Stud.*, 2012, vol. 21, pp. 1125–1139.
80. Edwards C., Graham D., Fowler N., Lawton L. A. Biodegradation of microcystins and nodularin in freshwaters. *Chemosphere*, 2008, vol. 73, pp. 1315–1321.
81. Fitzgeorge N. L. M., Clark S. A., Kelvin C. W. Routes of intoxication. *Detection methods for cyanobacterial (Blue-green algal) toxins*. Eds G. A. Codd, T. M. Jefferies, C. W. Keevil, E. Potter. Cambridge, The Royal Society of Chemistry, 1994, pp. 69–74.
82. Ueno Y., Nagata S., Tsutsumi T., Hasegawa A., Watanabe M. F., Park H. D., Chen G., Yu S. Z. Detection of microcystin, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay. *Carcinogenesis*, 1996, vol. 17, no 6, pp. 1317–1321.
83. Chen J., Xie P., Li L., Xu J. First identification of the hepatotoxic microcystins in the serum of a chronically exposed human population together with indication of hepatocellular damage. *Toxicol. Sci.*, 2009, vol. 108, no 1, pp. 81–89.
84. Klein A. R., Baldwin D. S., Silvester E. Proton and iron binding by the cyanobacterial toxin microcystin-LR. *Environ. Sci. Technol.*, 2013, vol. 47, no 10, pp. 5178–5184.
85. Maagd de P. G.-J., Hendriks A. J., Seinen W., Sijm D. T. H. M. pH-dependent hydrophobicity of the cyanobacteria toxin microcystin-LR. *Water Res.*, 1999, vol. 33, no 3, pp. 677–680.
86. An J., Carmichael W. W. Use of a colorimetric protein phosphatase inhibition assay and enzyme linked immunosorbent assay for the study of microcystins and nodularins. *Toxicon*, 1994, vol. 32, pp. 1495–1507.
87. Runnegar M. T. C., Berndt N., Kong S. M., Lee E. Y., Zhang L. In vivo and in vitro binding of microcystin to protein phosphatases 1 and 2A. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1995a, vol. 216, no 1, pp. 162–169.
88. Rinehart K. L., Namikoshi M., Choi B. W. Structure and biosynthesis of toxins from bluegreen algae (cyanobacteria). *J. Appl. Phycol.*, 1994, vol. 6, pp. 159–176.
89. Sivonen K., Jones G. Cyanobacterial toxins. *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*. Eds I. Chorus, J. Bartram. London, 1999, pp. 41–111.
90. Ward C. J., Codd G. A. Comparative toxicity of four microcystins of different hydrophobicities to the protozoan, *Tetrahymena pyriformis*. *J. Appl. Microbiol.*, 1999, vol. 86, pp. 874–882.

91. Goldberg J. Huang H.-B., Kwon Y.-G., Greengard P., Nairn A. C., Kuriyan J. Three-dimensional structure of the catalytic subunit of protein serine/threonine phosphatase-1. *Nature*, 1995, vol. 376, no 6543, pp. 745–753.
92. Runnegar M., Berndt N., Kaplowitz N. Microcystin uptake and inhibition of protein phosphatases: effects of chemoprotectants and self-inhibition in relation to known hepatic transporters. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1995b, vol. 134, pp. 264–272.
93. MacKintosh R. W., Dalby K. N., Campbell D. G., Cohen P. T. W., MacKintosh C. The cyanobacterial toxin microcystin binds covalently to cysteine-273 on protein phosphatase 1. *FEBS Lett.*, 1995, vol. 371, pp. 236–240.
94. Craig M., Luu H. A., McCreedy T. L., Williams D., Andersen R. J., Holmes C. F. Molecular mechanisms underlying the interaction of motuporin and microcystins with type-1 and type-2A protein phosphatases. *Biochem. Cell Biol.*, 1996, vol. 74, no 4, pp. 569–578.
95. Mattila K., Annala A., Rantala T. T. Metal ions mediate the binding of cyanobacterial toxins to human protein phosphatase I. Available at: <http://www.urn.fi/urn:isbn:9514257693> (accessed: 3.07.2017).
96. Mikhailov A., Härmälä-Brask'an A.-S., Hellman J., Meriluoto J., Eriksson J. E. Identification of ATP-synthase as a novel intracellular target for microcystin-LR. *Chem. Biol. Interact.*, 2003, vol. 142, no 3, pp. 223–237.
97. Maynes J. T., Perreault K. R., Cherney M. M., Luu H. A., James M. N. G., Holmes Ch. F. B. Crystal structure and mutagenesis of a protein phosphatase-I: calcineurin hybrid elucidate the role of the β 12- β 13 loop in inhibitor binding. *J. Biol. Chem.*, 2004, vol. 279, no 41, pp. 43198–43206.
98. Maynes J. T., Luu H. A., Cherney M. M., Andersen R. J., Williams D., Holmes C. F., James M. N. Crystal structures of proteinphosphatase-1 bound to motuporin and dihydromicrocystin-LA: elucidation of the mechanism of enzyme inhibition by cyanobacterial toxins. *J. Mol. Biol.*, 2006, vol. 356, no 1, pp. 111–120.
99. Herfindal L., Selheim F. Microcystin produces disparate effects on liver cells in a dose dependent manner. *Mini Rev. Med. Chem.*, 2006, vol. 6, no 3, pp. 279–285.
100. Nishiwaki-Matsushima R., Nishiwaki S., Ohta T., Yoshizawa S., Suganuma M., Harada K., Watanabe M. F., Fujiki H. Structure-function relationships of microcystins, liver tumor promoters, in interaction with protein phosphatase. *Jpn. J. Cancer Res.*, 1991, vol. 82, no 9, pp. 993–996.
101. Gullledge B. M., Aggen J. B., Huangb H. B., Nairnc A. C., Chamberlin A. R. The microcystins and nodularins: cyclic polypeptide inhibitors of PP1 and PP2A. *Curr. Med. Chem.*, 2002, vol. 9, no 22, pp. 1991–2003.
102. Gullledge B. M., Aggen J. B., Chamberlin A. R. Linearized and truncated microcystin analogues as inhibitors of protein phosphatases 1 and 2A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2003a, vol. 13, no 17, pp. 2903–2906.
103. Gullledge B. M., Aggen J. B., Eng H., Sweimeh K., Chamberlin A. R. Microcystin analogues comprised only of Adda and a single additional amino acid retain moderate activity as PP1/PP2A inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2003b, vol. 13, no 17, pp. 2907–2911.
104. Humphrey W. F., Dalke A., Schulten K. VMD — Visual molecular dynamics. *J. Mol. Graphics Modell.*, 1996, vol. 14, pp. 33–38.
105. Bagu J. R., Sykes B. D., Craig M. M., Holmes C. F. B. A molecular basis for different interactions of marine toxins with protein phosphatase-1. Molecular models for bound motuporin, microcystins, okadaic acid, and calyculin A. *J. Biol. Chem.*, 1997, vol. 272, no 8, pp. 5087–5097.
106. Hastie C. J., Borthwick E. B., Morrison L. F., Codd G. A., Cohen P. T. W. Inhibition of several protein phosphatases by a non-covalently interacting microcystin and a novel cyanobacterial peptide, nos-tocyclin. *Biochim. Biophys. Acta*, 2005, vol. 1726, pp. 187–193.
107. Runnegar M. T. C., Falconer I. R., Silver J. Deformation of isolated rat hepatocytes by a peptide hepatotoxin from the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1981, vol. 317, no 3, pp. 268–272.
108. Falconer I. R. Cytoskeletal changes in hepatocytes induced by *Microcystis* toxins and their relation to hyperphosphorylation of cell proteins. *Chem. Biol. Interact.*, 1992, vol. 81, no 1–2, pp. 181–196.
109. Fujiki H., Suganuma M. Tumor promotion by inhibitors of protein Z phosphatases 1 and 2A: the okadaic acid class of compounds. *Adv. Cancer Res.*, 1993, vol. 61, pp. 143–194.
110. Mountfort D. O., Holland P., Sprosen J. Method for detecting classes of microcystins by combination of protein phosphatase inhibition assay and ELISA: comparison with LC-MS. *Toxicol.*, 2005, vol. 45, pp. 199–206.
111. Robinson N. A., Pace J. G., Matson C. F., Miura G. A., Lawrence W. B. Tissue distribution, excretion and hepatic biotransformation of microcystin-LR in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1991, vol. 256, no 1, pp. 176–182.
112. Dixit R. B., Suseela M. R. Cyanobacteria: Potential candidates for drug discovery. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2013, vol. 103, pp. 947–961.

113. Tan L. T. Bioactive natural products from marine cyanobacteria for drug discovery. *Phytochemistry*, 2007, vol. 68, no 7, pp. 954–979.
114. Furey A., Allis O., Ortea P. M., Lehane M., James K. J. Hepatotoxins: Context and chemical determination. *Seafood and freshwater toxins. Pharmacology, physiology and detection*. Ed. by L. M. Botana. Boca Raton, 2008, pp. 844–886.
115. Rodriguez-Navarro A. J., Berde Ch. B., Wiedmaier G., Mercado A., Garcia C., Iglesias V., Zurakowski D. Comparison of neosaxitoxin versus bupivacaine via port infiltration for postoperative analgesia following laparoscopic cholecystectomy. A randomized, double-blind trial. *Region. Anesth. Pain M*, 2011, vol. 36, no 2, pp. 103–109.
116. Carmichael W. W. The cyanotoxins. *Adv. Bot. Res.*, 1997, vol. 27, pp. 211–256.
117. Sainis I., Fokas D., Vareli K., Tzakos A. G., Kounnis V., Briasoulis E. Cyanobacterial cyclopeptides as lead compounds to novel targeted cancer drugs. *Mar. Drugs*, 2010, vol. 8, pp. 629–657.
118. Fischer W. J., Alzheimer S., Cattori V., Meier P. J., Dietrich D. R., Hagenbuch B. Organic anion transporting polypeptides expressed in liver and brain mediate uptake of microcystin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2005, vol. 203, pp. 257–263.
119. Monks N. R., Liu S., Xu Y., Yu H., Bendelow A. S., Moscow J. A. Potent toxicity of the phosphatase inhibitor microcystin LR and microcystin analogues in OATPB1- and OATP1B3-expressing HeLa cells. *Mol. Cancer Ther.*, 2007, vol. 6, pp. 587–598.
120. Amado L. L., Monserrat J. M. Oxidative stress generation by microcystins in aquatic animals: why and how. *Environ. Int.*, 2010, vol. 36, pp. 226–235.
121. Meriluoto J., Codd G. A. *Toxic: Cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis*. Turku, Åbo Akademi University Press, 2005. 149 p.
122. Pierce R. H., Kirkpatrick G. J. Innovative techniques for harmful algal toxin analysis. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2001, vol. 20, no 1, pp. 107–114.
123. Chu F. S., Fan T. L. Screening of paralytic shellfish poisoning toxins in naturally occurring samples with three different direct competitive enzyme-linked immunosorbent assays. *J. Agric. Food. Chem.*, 1996, vol. 44, pp. 4043–4047.
124. Huang X., Hsu K. H., Chu F. S. Direct competitive enzyme-linked immunosorbent assay for saxitoxin and neosaxitoxin. *J. Agric. Food. Chem.*, 1996, vol. 44, pp. 1029–1035.
125. Micheli L., Stefano di S., Moscone D., Palleschi G., Marini S., Coletta M., Draisci R., Quadri delli F. Production of antibodies and development of highly sensitive formats of enzyme immunoassay for saxitoxin analysis. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2002, vol. 373, pp. 678–684.
126. Usleber E., Donald M., Straka M., Märtlbauer E. Comparison of enzyme immunoassay and mouse bioassay for determining paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish. *Food Addit. Contam.*, 1997, vol. 14, pp. 193–198.
127. Dolah van F. M., Ramsdell J. S. Review and assessment of in vitro detection methods for algal toxins. *J. AOAC Int.*, 2001, vol. 84, pp. 1617–1625.
128. Etheridge S., Deeds J., Hall S., White K., Flewelling L., Abbott J., Landsberg J., Conrad S., Bodager D., Jackow G. Detection methods and their limitations: PSP toxins in the southern puffer fish *Sphoeroides nephelus* responsible for human poisoning events in Florida in 2004. *Afr. J. Mar. Sci.*, 2006, vol. 28, pp. 383–387.
129. Egmond van H. P., Top van den H. J., Paulsch W. E., Goenaga X., Vieytes M. R. Paralytic shellfish poison reference materials: An intercomparison of methods for the determination of saxitoxin. *Food Addit. Contam.*, 1994, vol. 11, pp. 39–56.
130. Villatte F., Schulze H., Schmid R. D., Bachmann T. T. A disposable acetylcholinesterase-based electrode biosensor to detect anatoxin-a(s) in water. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2002, vol. 372, pp. 322–326.
131. Lawton L. A., Chambers H., Edwards C., Nwaopara A. A., Healy M. Rapid detection of microcystins in cells and water. *Toxicon*, 2010, vol. 55, pp. 973–978.
132. Nicholson B. C., Burch M. D. *Evaluation of analytical methods for detection quantification of cyanotoxins in relation to Australian drinking water guidelines*. Canberra, National Health and Medical Research Council of Australia, 2001. 57 p.
133. Oehrle A. S., Westrick J. Analysis of various cyanobacterial toxins by LC-MS. *LCGC Europe*, 2002, vol. 15, no 11, pp. 728–733.
134. Metcalf J. S., Beattie K. A., Ressler J., Gerbersdorf S., Pflugmacher S., Codd G. A. Cross-reactivity and performance assessment of four microcystin immunoassays with detoxication products of the cyanobacterial toxin, microcystin-LR. *J. Water Supply Res. T.*, 2002, vol. 51, no 3, pp. 145–151.
135. Ward C. J., Beattie K. A., Lee E. Y. C., Codd G. A. Colorimetric protein phosphatase inhibition assay of laboratory strains and natural blooms of cyanobacteria: comparisons with high-performance liquid chromatographic analysis for microcystins. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1997, vol. 153, pp. 465–473.

136. Wirsing B., Flury T., Wiedner C., Neumann U., Weckesser J. Estimation of the microcystin content in cyanobacterial field samples from German lakes using the colorimetric protein-phosphatase inhibition assay and RP-HPLC. *Environ. Toxicol.*, 1999, vol. 14, pp. 23–29.
137. Heresztyn T., Nicholson B. C. Determination of cyanobacterial hepatotoxins directly in water using a protein phosphatase inhibition assay. *Water Res.*, 2001, vol. 35, pp. 3049–3056.
138. Oliveira A. C. P., Magalhães V. F., Soares R. M., Azevedo S. M. F. O. Influence of drinking water composition on quantitation and biological activity of dissolved microcystin (cyanotoxin). *Environ. Toxicol.*, 2005, vol. 20, pp. 126–130.
139. Tsuji K., Masui H., Uemura H., Mori Y., Harada K.-I. Analysis of microcystins in sediments using MMPB method. *Toxicon*, 2001, vol. 39, no 5, pp. 687–692.
140. Sano T., Nohara K., Shiraishi F., Kaya K. A method for micro-determination of total microcystin content in waterblooms of cyanobacteria (blue-green algae). *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 1992, vol. 49, pp. 163–170.
141. Harada K.-I., Murata H., Qiang Z., Suzuki M., Kondo F. Mass spectrometric screening method for microcystins in cyanobacteria. *Toxicon*, 1996b, vol. 34, pp. 701–710.
142. Kaya K., Sano T. Total microcystin determination using erythro-2-methyl-3-(methoxy-d3)-4-phenylbutyric acid (MMPB-d3) as the internal standard. *Anal. Chim. Acta*, 1999, vol. 386, pp. 107–112.
143. McElhiney J., Lawton L. A. Detection of the cyanobacterial hepatotoxins microcystins. *Toxicol. App. Pharmacol.*, 2005, vol. 203, no 3, pp. 219–230.
144. Lawton L. A., Edwards C., Codd G. A. Extraction and high-performance liquid chromatographic method for the determination of microcystins in raw and treated waters. *Analyst*, 1994, vol. 119, no 7, pp. 1525–1530.
145. Harada K.-I. Chemistry and detection of microcystins. *Toxic microcystis*. Eds M. F. Watanabe, K.-I. Harada, W. W. Carmichael, H. Fujiki. Boca Raton, 1996, pp. 103–148.
146. Harada K.-I., Suzuki M., Dahlem A. M., Beasley V. R., Carmichael W. W., Rinehart K. L. Jr. Improved method for purification of toxic peptides produced by cyanobacteria. *Toxicon*, 1988, vol. 26, pp. 433–439.
147. Rapala J., Erkoma K., Kukkonen J., Sivonen K., Lahti K. Detection of microcystins with protein phosphatase inhibition assay, high-performance liquid chromatography-UV detection and enzyme-linked immunosorbent assay. Comparison of methods. *Anal. Chim. Acta*, 2002, vol. 466, pp. 213–231.
148. Meriluoto J., Eriksson J. E., Harada K.-I., Dahlem A. M., Sivonen K., Carmichael W. W. Internal surface reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of the cyanobacterial peptide toxins microcystin-LA, -LR, -YR, -RR and nodularin. *J. Chromatogr.*, 1990, vol. 509, pp. 390–395.
149. Spoo L., Karlsson K., Meriluoto J. High-performance liquid chromatographic separation of microcystins and nodularin, cyanobacterial peptide toxins, on C18 and amide C16 sorbents. *J. Chromatogr. (A)*, 2001, vol. 909, pp. 225–236.
150. Spoo L., Meriluoto J. Rapid separation of microcystins and nodularin using a monolithic silica C18 column. *J. Chromatogr. (A)*, 2002, vol. 947, pp. 237–245.
151. ISO 20179:2005. Water quality — Determination of microcystins — Method using solid phase extraction (SPE) and high performance liquid chromatography (HPLC) with ultraviolet (UV) detection. Technical Committee ISO/TC 147, 2005. 24 p.
152. Boyer G. L., Janiszewski J. J., Hu X. A comparison of electrochemical methods for the analysis of PSP toxins. *Harmful algae*. Eds. B. Reguera, J. Blanco, M. L. Fernández, T. Wyatt. Santiago de Compostela, Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, 1998, pp. 515–518.
153. Gago-Martinez A., Leão J. M., Piñeiro N., Carballal E., Vaquero E., Nogueiras M., Rodriguez-Vazquez J. A. An application of capillary electrophoresis for the analysis of algal toxins from the aquatic environment. *Int. J. Environ. An. Ch.*, 2003, vol. 83, pp. 443–456.
154. Wu Y., Ho A. Y., Qian P. Y., Leung K. S., Cai Z., Lin J. M. Determination of paralytic shellfish toxins in dinoflagellate *Alexandrium tamarense* by using isotachopheresis/capillary electrophoresis. *J. Sep. Sci.*, 2006, vol. 29, pp. 399–404.
155. Wong H. S., Hindin E. Detecting an algal toxin by high-pressure liquid chromatography. *J. Am. Water Works Assoc.*, 1982, vol. 74, pp. 528–529.
156. Harada K.-I., Kimura I., Ogawa K., Suzuki M., Dahlem A. M., Beasley V. R., Carmichael W. W. A new procedure for the analysis and purification of naturally occurring anatoxin-a from the blue-green alga *Anabaena flos-aquae*. *Toxicon*, 1989, vol. 27, pp. 1289–1296.
157. Sanchez J. A., Otero P., Alfonso A., Ramos V., Vasconcelos V., Araújo R., Molgó J., Vieytes M. R., Botana L. M. Detection of anatoxin-a and three analogs in *Anabaena spp.* cultures: New fluorescence polarization assay and toxin profile by LC-MS/MS. *Toxins*, 2014, vol. 6, pp. 402–415.

158. Ojanpera I., Vuori E., Himberg K., Warris M., Niinivarra K. Facile detection of anatoxin-a in algal material by thin-layer chromatography with Fast Black K salt. *Analyst*, 1991, vol. 116, pp. 265–267.
159. Al-Layl K. J., Poon G. K., Codd G. A. Isolation and purification of peptide and alkaloid toxins from *Anabaena flos-aquae* using high performance thin-layer chromatography. *J. Microbiol. Methods*, 1988, vol. 7, pp. 251–258.
160. Boyer G., Dyble J. Harmful algal blooms. A newly emerging pathogen in water. Available at: http://www.cws.msu.edu/documents/HarmfulAlgalBloomsWhitePaper_Boyer_Dyble.pdf (accessed: 3.07.2017).
161. Pereira P., Onodera H., Andrinolo D., Franca S., Araújo F., Lagos N., Oshima Y. Paralytic shellfish toxins in the freshwater cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae*, isolated from Montargil reservoir, Portugal. *Toxicon*, 2000, vol. 38, pp. 1689–1702.
162. Liu Y., Chen W., Li D., Shen Y., Li G., Liu Y. First report of Antoxins in China — waterblooms of toxigenic *Aphanizomenon flos-aquae* in Lake Dianchi. *Ecotox. Environ. Safe.*, 2006, vol. 65, pp. 84–92.
163. Dell'Aversano C., Hess P., Quilliam M. A. Hydrophilic interaction liquid chromatography-mass spectrometry for the analysis of paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins. *J. Chromatogr. (A)*, 2005, vol. 1081, pp. 190–201.
164. Papageorgiou J., Nicholson B. C., Linke T. A., Kapralos C. Analysis of cyanobacterial-derived saxitoxins using high-performance ion exchange chromatography with chemical oxidation/fluorescence detection. *Environ. Toxicol.*, 2005, vol. 20, no 6, pp. 549–559.
165. Tatsuno R., Yamaguchi K., Takatani T., Arakawa O. RT-PCR- and MALDI-TOF mass spectrometry-based identification and discrimination of isoforms homologous to pufferfish saxitoxin- and tetrodotoxin-binding protein in the plasma of non-toxic cultured pufferfish (takifugu rubripes). *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2013, vol. 77, no 1, pp. 208–212.
166. Roegner A. F., Schirmer M. P., Puschner B., Brena B., Gonzalez-Sapienza G. Rapid quantitative analysis of microcystins in raw surface waters with MALDI MS utilizing easily synthesized internal standards. *Toxicon*, 2014, vol. 78, pp. 94–102.
167. Kadlec K. M., Turczyn A., Grant J. Comparative analysis of ELISA and MALDI-TOF mass spectrometry methods for microcystins in freshwater samples. *FASEB J.*, 2016, vol. 30, no 1. Supplement 1122.1.
168. Poon G. K., Griggs L. J., Edwards C., Beattie K. A., Codd G. A. Liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry of cyanobacterial toxins. *J. Chromatogr. (A)*, 1993, vol. 628, pp. 215–233.
169. Spoof L. Microcystins and nodularins. *Toxic: cyanobacterial monitoring and cyanotoxins analysis*. Eds J. Meriluoto, G. A. Codd. Abo, 2005, pp. 15–39.
170. Meriluoto J., Spoof L. Cyanotoxins: sampling, sample processing and toxin uptake. Cyanobacterial harmful algal blooms: State of the science and research needs. *Advances in experimental medicine and biology*. Ed. by H. H. Kenneth. Berlin, 2008, vol. 619, pp. 483–499.
171. Reyero M., Cacho E., Martínez A., Vázquez J., Marina A., Fraga S., Franco J. M. Evidence of saxitoxin derivatives as causative agents in the 1997 mass mortality of monk seals in the Cape Blanc peninsula. *Nat. Toxins*, 1999, vol. 7, pp. 311–315.
172. Ito K., Asakawa M., Sida Y., Miyazawa K. Occurrence of paralytic shell fish poison (PSP) in the star fish *Asterina pectinifera* collected from the Kure bay, Hiroshima Prefecture, Japan. *Toxicon*, 2003, vol. 41, pp. 291–295.
173. Dahlmann J., Budakowski W. R., Luckas B. Liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry based methods for the simultaneous determination of algal and cyanobacterial toxins in phytoplankton from marine waters and lakes followed by tentative structural elucidation of microcystins. *J. Chromatogr. (A)*, 2003, vol. 994, pp. 45–57.
174. Maizels M., Budde W. L. LC/MS method for the determination of cyanobacteria toxins in water. *Anal. Chem.*, 2004, vol. 76, pp. 1342–1351.
175. James K. J., Crowley J., Hamilton B., Lehane M., Skulberg O., Furey A. Anatoxins and degradation products, determined using hybrid quadrupole time-of-flight and quadrupole ion-trap mass spectrometry: forensic investigations of cyanobacterial neurotoxin poisoning. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2005, vol. 19, no 9, pp. 1167–1175.
176. Furey A., Crowley J., Hamilton B., Lehane M., James K. J. Strategies to avoid the mis-identification of anatoxin-a using mass spectrometry in the forensic investigation of acute neurotoxic poisoning. *J. Chromatogr. (A)*, 2005, vol. 1082, pp. 91–97.
177. Dörr F. A., Rodríguez V., Molica R., Henriksen P., Krock B., Pinto E. Methods for detection of anatoxin-a(s) by liquid chromatography coupled to electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Toxicon*, 2010, vol. 55, pp. 92–99.

178. Diehnelt C. W., Peterman S. M., Budde W. L. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry and accurate m/z measurements of cyclic peptide cyanobacteria toxins. *Trends Anal. Chem.*, 2005, vol. 24, no 7, pp. 622–634.

179. Bogialli S., Bruno M., Curini R., Corcia di A., Fanali C., Laganà A. Monitoring algal toxins in lake water by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.*, 2006, vol. 40, pp. 2917–2923.

180. Bruno M., Melchiorre S., Messineo V., Volpi F., Corcia di A., Aragona I., Guglielmo G., Paolo di C. M. C., Ferranti P., Gallo P. Microcystin detection in contaminated fish from Italian lakes using ELISA immunoassays and LC-MS/MS analysis. *Handbook on cyanobacteria: Biochemistry, biotechnology and applications*. Eds P. M. Gault, H. J. Marler. New York, 2009, pp. 191–210.

181. Neffling M.-R., Spooof L., Quilliam M., Meriluoto J. LC-ESI-Q-TOF-MS for faster and accurate determination of microcystins and nodularins in serum. *J. Chromatogr. (B)*, 2010, vol. 878, no 26, pp. 2433–2441.

182. Chernova E. N., Russkikh Ya. V., Podolskaya E. P., Zhakovskaya Z. A., Tsarev V. S., Kukhareva G. I. Optimizatsiia parametrov mass-spektrometricheskogo analiza tsianotoksinov na gibridnom khromato-mass-spektrometre LTQ Orbitrap XL (Thermo Finnigan) [Analysis of cyanotoxines using an LTQ Orbitrap (thermo Finnigan): the optimization of mass-spectrometry method]. *Nauch. priborostroenie [Scientific instrument making]*, 2013, vol. 23, no 14, pp. 20–29. (In Russian)

183. Chernova E. N., Russkikh Ia. V., Podolskaya E. P., Zhakovskaya Z. A. Opredelenie mikrotsistinov i anatoksin-a metodom zhidkostnoi khromato-mass-spektrometrii nizkogo razresheniia [Determination of microcystins and anatoxin-a using liquid chromatography-mass-spectrometry of unit resolution]. *Nauch. priborostroenie [Scientific instrument making]*, 2016, vol. 26, no 1, pp. 11–25. (In Russian)

184. Russkikh Y. V., Chernova E. N., Voyakina E. Ju., Nikiforov V. A., Zhakovskaya Z. A. Opredelenie tsianotoksinov v vodnoi matritse metodom vysokoeffektivnoi zhidkostnoi khromatografii — mass-spektrometrii vysokogo razresheniia [Cyanotoxin determination in natural water matrix by the method of high performance liquid chromatography- mass-spectrometry of high resolution]. *Izv. SPbGTI (TU) [Bull. St. Petersburg State Institute of Technology (Technical University)]*, 2012, no 17 (43), pp. 61–66. (In Russian)

185. Chernova E. N., Russkikh I. V., Voujakina E. Yu., Zhakovskaya Z. A. Issledovaniia prirodnykh ekotoksikantov — metabolitov sine-zelenykh vodoroslei v raznotipnykh vodoemakh Cevero-Zapada Rossii [Research of natural ecotoxicants — methabolites of blue-green algae in various water-bodies of the north-west of Russia]. *Reg. ekologiia [Regional ecology]*, 2014, vol. 35, no 1–2, pp. 88–95. (In Russian)

186. Chernova E. N., Russkikh Ja. V., Afonina E. I., Keltsieva O. A., Ostrovskii V. A., Podolskaya E. P., Zhakovskaya Z. A. Mass-spektrometricheskii analiz mikrotsistinov iz biomassy tsianobakterii. Optimizatsiia protsedury probopodgotovki [Mass spectrometric analysis of microcystins from cyanobacterial biomass. Optimization of the sample preparation procedure]. *Ekologich. khimiia [Ecological chemistry]*, 2016, vol. 25 (4), pp. 204–216. (In Russian)

Статья поступила в редакцию 7 июля 2017 г.

Контактная информация

Чернова Екатерина Николаевна — e-mail: s3561389@yandex.ru

Русских Яна Владимировна — кандидат химических наук; e-mail: yanarussk@gmail.com

Жаковская Зоя Андреевна — кандидат биологических наук; e-mail: zazhak@hotmail.com

Chernova Ekaterina Nikolaevna — e-mail: s3561389@yandex.ru

Russkikh Iana Vladimirovna — PhD; e-mail: yanarussk@gmail.com

Zhakovskaya Zoya Andreevna — PhD; e-mail: zazhak@hotmail.com