

**Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
ИМ. АКАДЕМИКОВ М.М. ШЕМЯКИНА И Ю.А. ОВЧИННИКОВА
Российской академии наук**

УЧЕБНО-НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

**ОБЩЕСТВО БИОТЕХНОЛОГОВ РОССИИ
ИМ. Ю.А. ОВЧИННИКОВА**

**XXXV ЗИМНЯЯ МОЛОДЁЖНАЯ НАУЧНАЯ ШКОЛА
"ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ФИЗИКО-
ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ"**

Москва, 7-10 февраля 2023 г.

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

**Председатель Программного комитета:
академик А.Г. Габиров**

**Председатель Организационного комитета:
д.х.н. Т.В. Овчинникова**

Составители:

Овчинникова Т.В., Шереметьева Э.В.

Компьютерная верстка: Яковлева Т.И.

Отпечатано на полиграфическом участке ИБХ РАН

Печать офсетная. Печ. л. 16,8. Тираж 100 экз.

© Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, 2023 г.

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

СЕКЦИЯ 1

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ПЕПТИДОВ И БЕЛКОВ. БИОКАТАЛИЗ

1.1. СПИН-МЕЧЕННЫЕ АКЦЕПТОРЫ МИХАЭЛЯ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ КОВАЛЕНТНОГО ИНГИБИРОВАНИЯ ТИОРЕДОКСИНРЕДУКТАЗЫ

Анохова В.Д.¹, Чупахин Е.Г.¹, Зозуля А.С.¹, Красавин М.Ю.²

¹Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта,
Калининград

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
anohovaveronika@yandex.ru

Поддержание окислительно-восстановительного баланса важно для живых организмов. В ходе клеточного метаболизма, в том числе метаболизма ксенобиотиков, образуются активные формы кислорода/азота. Их образование контролируется антиоксидантными системами, в основном глутатион- или тиоредокс-независимыми системами. Возможность модулировать сигнальные пути экзогенными веществами/соединениями, воздействующими на тиоредоксине независимую систему, создает реальную возможность расширить применение существующих препаратов, а также способствует поиску новых фармакотерапевтических методов лечения рака для активации путей апоптоза в опухолевых клетках. Тиоредоксинредуктаза I человека обладает высоким потенциалом в качестве мишени для новых типов противоопухолевых препаратов. Проект направлен на поиск и изучение новых природных соединений, обладающих высокой селективностью и ингибирующей активностью в отношении тиоредоксинредуктазы I.

В нашей работе получены 1-арил-3-арилиденпирролидин-2,5-дионы в высокопродуктивных реакциях прямого диазопереноса с последующим вовлечением полученных диазосоединений в Rh II, катализируемые реакциями внедрения O-H, S-H и N-H, приводили к 4-замещенным 1-арил-3-арилиденпирролидин-2,5-дионом определенной региохимии и геометрической конфигурации, а также был получена серия спин-меченных бензилиден имидазолинонов. Эти продукты предназначены для изучения в качестве акцепторов Михаэля, способных ингибировать тиоредоксинредуктазу, многообещающую мишень для рака. Полученные акцепторы Михаэля использовали для введения спиновой метки с целью изучения процесса ковалентного связывания фермента с ингибитором. Полученные результаты позволяют сделать вывод о наличии связи между молекулярной структурой и селективностью ингибиторов.

1.2. ОТСЛЕЖИВАНИЕ КОНФОРМАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ БЕЛКОВ С ПОМОЩЬЮ КРАСИТЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ ХРОМОФОРА GFP

Белоусов А.С.¹, Маслов И.В.¹, Хорн П.А.¹, Мишин А.С.², Баранов М.С.², Мишин А.В.¹, Зерний Е.Ю.³, Пермяков С.Е.⁴, Борщевский В.И.¹

¹Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

³НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ, Москва

⁴Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН, Пущино

Belousov.as@phystech.edu

РеCOVERIN представляет собой белок с массой 23 кДа, относящийся к суперсемейству EF-hand Ca²⁺-связывающих белков. Одной из его функций является регулирование активности родопсинакиназы GRK1, регулирующей активность родопсина. При тусклом окружающем освещении уровень кальция в клетках сетчатки высок, поэтому реCOVERIN связывается с кальцием, высвобождает миристоиловую группу, прикрепляется к липидному бислою и ингибирует GRK1. РеCOVERIN сохраняет чувствительность родопсина к фотонам, и позволяет глазу обнаруживать сигналы в условиях низкой освещенности. Высвобождение миристоиловой группы при активации изменяет конформацию белка, что позволяет проводить эксперименты с отслеживанием конформации реCOVERINA. В данной работе мы описываем флуоресцентные сольватохромные красители, пригодные для спектроскопического наблюдения конформационных изменений в реCOVERINE.

Мы изучили четыре красителя на основе хромофорного ядра GFP, которые присоединяются к единственному цистеину в 39-м положении с помощью малеимид-тиолового взаимодействия. Мы подтвердили связывание красителя с реCOVERINOM, проверили специфичность покраски, а затем два из четырех образцов показали изменения в фотофизических свойствах при добавлении CaCl₂ к неактивному и EGTA к активному белку.

Один из четырех красителей был успешно использован для отслеживания конформационных изменений GPCR, индуцированных различными лигандами.

Наши эксперименты подтвердили сольватохромные свойства исследованных флуоресцентных красителей и показали, что они могут быть успешно использованы для спектроскопического наблюдения конформационной динамики в белках.

Работа поддержана Министерством науки и высшего образования РФ (соглашение # 075-00337-20-03, проект FSMG-2020-0003).

1.3. ЯМР-ИССЛЕДОВАНИЯ ДИМЕРИЗАЦИИ ТРАНСМЕМБРАННЫХ ДОМЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ ИНСУЛИНА

*Бершацкий Я.В.^{1,2}, Бочарова О.В.¹, Надеждин К.Д.¹, Арсеньев А.С.¹,
Минеев К.С.¹, Бочаров Э.В.^{1,2}*

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный
yaroslav.bershatskiy@phystech.edu

Рецепторные тирозинкиназы (РТК), сгруппированные в 20 подсемейств, играют ключевую роль в разнообразной клеточной активности, участвуя в различных процессах, сигнальных путях и отвечают за ключевые события в работе организма. Подсемейство рецепторов инсулина, одно из подсемейств РТК, содержит три рецептора: рецептор инсулина (IR), рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF1R) и рецептор подобный инсулиновому (IRR). Нарушение функции рецепторов связано с развитием таких заболеваний как диабет, рак и болезнь Альцгеймера. Несмотря на высокую взаимную гомологию последовательности и структуры, локализация, экспрессия и функции рецепторов подсемейства сильно различаются.

В структуре РТК выделяют 3 домена: лиганд-связывающий внеклеточный домен, трансмембранный домен (ТМ) и каталитический внутриклеточный домен. Структура семейства рецепторов инсулина выделяется среди других РТК. Мономеры рецепторов подсемейства состоят из двух полипептидных цепей, соединенных дисульфидной связью. В мембране клетки рецепторы существуют исключительно в форме ковалентно связанных димеров.

В этой работе мы изучили димеризацию ТМ доменов InsR, IGF1R и IRR, с помощью ЯМР-спектроскопии. Нами были получены структуры всех ТМ доменов в мицеллах детергента в димерной форме, а также данные о динамике ТМ доменов в мембрано-подобной среде. Несмотря на высокую гомологию последовательностей рецепторов, полученные структуры ТМ доменов отличаются не только структурно, но и динамически, что может указывать на характерные различия в передаче сигнала.

ЯМР-исследования и биотехнологические работы были поддержаны Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 19-74-30014).

1.4. АНАЛОГИ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ СЕМЕЙСТВА ПРОТЕГРИНОВ С ПОВЫШЕННОЙ СЕЛЕКТИВНОСТЬЮ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ

Болосов И.А., Пантелеев П.В., Овчинникова Т.В., Баландин С.В.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
bolosoff@gmail.com

Одним из перспективных подходов к преодолению проблемы антибиотикорезистентности является поиск и внедрение в клиническую практику антибактериальных соединений, обладающих принципиально новыми механизмами действия и оказывающих быстрый бактерицидный эффект на патогенные бактерии, независимо от их метаболической активности, физиологических свойств и локализации очага инфекции. Основой для таких препаратов могут стать β -спилечные антимикробные пептиды (АМП). За счет своей жесткой молекулярной структуры β -спилечные АМП обладают повышенной устойчивостью к действию протеолитических ферментов и могут рассматриваться как основа для создания системных антимикробных препаратов. Вместе с тем, такие пептиды часто обладают достаточно высоким уровнем сопутствующей токсичности в отношении эукариотических клеток. Этот недостаток может быть в той или иной степени нивелирован путем рациональной оптимизации структуры молекулы.

Богатым источником новых АМП, которые могут послужить основой для рационального дизайна прототипов пептидных антибиотиков, являются геномы млекопитающих. Особое место среди таких пептидов занимают кателицидины - обширная группа АМП, объединяемая общей структурой белка-предшественника. Среди кателицидинов, идентифицированных нами в базах данных полногеномного и транскриптомного секвенирования видов семейства *Suidae* (Свиные), были обнаружены новые аналоги β -спилечного антимикробного пептида протегрин-1. Информация о природной вариабельности данных пептидов стала основой для проектирования рекомбинантных аналогов с целью получения пептидов, обладающих сниженной токсичностью в отношении эукариотических клеток, но сохраняющих активность в отношении бактериальных патогенов. В ходе работы были получены менее токсичные варианты, сохраняющие активность природного протегрин-1 в отношении широкой панели грамположительных и грамотрицательных бактерий. Для ряда из них было показано увеличение терапевтического индекса в десять и более раз по сравнению с природным пептидом. Полученные в ходе работы аналоги могут рассматриваться в качестве прототипов для создания новых пептидных антибиотиков.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ (соглашение № 22-25-00496)

1.5. МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ УЧАСТКОВ С-ТЕРМИНАЛЬНОГО ДОМЕНА HlyII *B. cereus*

Ветрова О.С.^{1,3}, Джомикова Д.Ш.^{1,3}, Замятина А.В.¹,
Каратовская А.П.¹, Руденко Н.В.¹, Бровко Ф.А.¹, Нагель А.С.²,
Андреева-Ковалевская Ж.И.², Сиунов А.В.², Солонин А.С.²

¹Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, РАН, Пущино

²ФИЦ "Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук", Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, РАН, Пущино

³Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино
olesja.wetrowa1999@gmail.com

Бактерия *Bacillus cereus* - одна из наиболее распространенных причин внутрибольничных инфекций, основным патогенным фактором которой является гемолизин II (HlyII). HlyII отличается от других токсинов этого типа наличием С-терминальной избыточности из 94 аминокислотных остатков (HlyIICTD). Получена панель моноклональных антител (МА) против рекомбинантного HlyIICTD, последовательность которого включала кроме участка, непосредственно соответствующего С-домену, линкер, сайт узнавания тромбином и 6-His тэг. Методом иммуоферментного анализа (ИФА) было проверено взаимодействие всех полученных антител с набором рекомбинантных белков, содержащих и не содержащих линкер, тромбиновый сайт и 6-His тэг. Набор включал полноразмерные токсины штаммов В771 и АТСС14579, токсин, не содержащий HlyIICTD, а также белок HlyIIICTD, соответствующий большому С-терминальному домену (HlyIIICTD) HlyII, представляющий собой надмембранную часть токсина. Было выявлено, что антитела HlyIIC-15 (против тромбинового сайта), HlyIIC-12, HlyIIC-27, HlyIIC-34, HlyIIC-37 (против линкера) узнавали С-концевую часть молекулы. Эксперименты по ингибированию взаимодействия биотинилированного HlyIICTD МА выявили, что этому взаимодействию препятствовали МА HlyIIC-15, HlyIIC-34, HlyIIC-37, а, также HlyIIC-30, эпитоп которого, следовательно, также локализован С-концевой области. МА по-разному взаимодействовали с препаратами нативного полноразмерного HlyII при исследовании взаимодействия методом ИФА. МА HlyIIC-16, HlyIIC-23, HlyIIC-38 не узнавали полноразмерный токсин, что свидетельствовало о локализации их эпитопов в месте перехода С-терминального домена в коровую часть токсина. Использование моноклональных антител как инструмента исследования HlyIICTD подтверждает тот факт, что HlyIICTD - белковый домен, обладающий способностью независимо и ориентировано связываться с мембранами эритроцитов.

Работа поддержана грантом РФФ № 22-74-10026.

1.6. ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ИОННЫХ КАНАЛОВ, ИНДУЦИРОВАННЫХ ТРАНСМЕМБРАННЫМ БЕЛКОМ Е ВИРУСА SARS-CoV-2

Воловик М.В.^{1,2}, Батищев О.В.^{1,2}

¹Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва

²Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный
marta.volovik@phystech.edu

Трансмембранный белок Е вируса SARS-CoV-2 является одним из четырех структурных белков, участвующих в основных процессах жизненного цикла вируса. Он локализуется в вирусной липидной оболочке и в процессе инфицирования накапливается в клетке-мишени. Основным функциональным доменом белка Е является альфа-спиральный трансмембранный домен, формирующий в процессе олигомеризации белка ион-проводящие каналы. К настоящему моменту установлено, что отсутствие трансмембранного домена приводит к снижению вирулентности вируса, что позволяет рассматривать формирование ион-проводящих каналов в качестве ключевого механизма потенциальных противовирусных препаратов. Однако, природа активности таких каналов требуют дальнейших исследований.

В данной работе с помощью метода локальной фиксации потенциала (patch-clamp) было исследовано влияние липидного состава плоских бислойных мембран на активность ион-проводящих каналов, индуцированных различными фрагментами белка Е вируса SARS-CoV-2. Была проведена классификация сигналов проводимости ионных каналов для мембран разной кривизны и с разным содержанием отрицательно заряженных липидов и установлена роль определенных участков белка в формировании ион-проводящих дефектов в мембране.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 20-54-14006).

1.7. ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ОБОЛОЧЕЧНОГО БЕЛКА Е ВИРУСА SARS-CoV-2 МЕТОДОМ АСМ

Гифер П.К.^{1,2}, Батищев О.В.^{1,2}

¹Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва

²Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный
gifer.pk@phystech.edu

Пандемия COVID-19 - одна из самых значительных эпидемий в новейшей истории. Понимание физико-химических механизмов взаимодействия коронавируса SARS-CoV-2 и клетки-хозяина играет важную роль в поиске стратегий борьбы с вирусом. Коронавирусы являются оболочечными вирусами, липидный бислой которых обычно включает три белка: спайк белок (S), мембранный белок (M) и белок оболочки (E). Эти белки изучаются на предмет их важной роли в связывании рецепторов и почковании вирионов. В то время как некоторые из коронавирусных белков хорошо охарактеризованы, другие остаются недостаточно изученными.

Коронавирусы, в том числе SARS-CoV-2, экспрессируют оболочечный белок (E), участвующий во многих аспектах жизненного цикла вируса. Белок E коронавирусов представляет собой небольшой интегральный мембранный белок из 76 аминокислот с одним предполагаемым трансмембранным α -спиральным гидрофобным доменом длиной 20-30 аминокислот, окруженный коротким N-концом (<10 аминокислоты) и более длинным C-концевым хвостом.

Белок E способствует упаковке и размножению вируса, а удаление этого белка ослабляет или даже устраняет вирулентность. Еще одной предполагаемой ролью белка E является стимуляция апоптоза. Также было обнаружено, что данный белок олигомеризуется, образуя пентамерную структуру, которая отображает активность ионного канала. Полноценное понимание роли E белка в проникновении вируса в клетку, репликации и формировании дочерних вирионов требует знания структуры и физико-химических свойств данного белка. Атомно-силовая микроскопия (АСМ) позволяет визуализировать динамику адсорбции, диффузию и взаимодействия различных биомолекул в их естественной жидкой среде на молекулярном уровне в режиме реального времени. В данной работе была исследована структура E белка SARS-CoV-2 и его доменов методом АСМ широкого разрешения и были получены данные о структурных характеристиках белка в физиологических условиях.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 20-54-14006).

1.8. ИЗУЧЕНИЕ СУБСТРАТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ И ВОЗМОЖНОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ФЕРМЕНТА ИЗ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КАМЧАТСКОГО КРАБА

Григель А.А.¹, Кудряева А.А.¹, Бачева А.В.², Паликов В.А.³,
Владимиров В.И.¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

³Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущино
antekgri@mail.ru

Протеазы - ферменты класса гидролаз, которые способны расщеплять пептидные связи, что находит широкое применение в современной фармацевтике. Протеазы используют при лечении сердечно-сосудистых заболеваний, муковисцидоза, псориаза и различных воспалений. В Институте биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН был выделен и хроматографически очищен фермент из пищеварительной железы *Paralithodes camtschaticus*. Результаты, полученные с помощью масс-спектрометрического анализа, показали, что по своему аминокислотному составу фермент является сериновой протеазой, ранее не аннотированной в базах данных. С использованием модельных пептидов было показано, что исследуемый нами фермент в основном гидролизует пептидные связи, образованные аминокислотами аланином, валином, аргинином и фенилаланином. При анализе гидролиза нативных белков было выявлено, что фермент гидролизует разные белки с проявлением наивысшей протеолитической активности по отношению к коллагену I типа. Используя масс-спектрометрический анализ гидролизатов БСА и коллагена I-типа, был установлен ряд предпочтительности гидролиза по С-концу аминокислот и подтверждено, что протеаза гидролизует пептидные связи, образованные неполярными алифатическими (аланин, глицин, пролин, валин, изолейцин), полярными незаряженными (серин, треонин), ароматическими (фенилаланин), а также и отрицательно заряженными (глутамат, аспаргат) аминокислотами.

С использованием мышинной модели было показано, что исследуемая протеаза не вызывает токсичности при подкожном введении в дозе 100 мкг. Учитывая полученные данные, можно предположить, что фермент может быть практически использован для терапии фиброзных изменений, например, глияльного рубца спинномозговой травмы.

Исследование выполнено при поддержке Минобрнауки России (контракт № 075-15-2021-1067).

1.9. ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТНЫХ ФОРМ ТРАНСМЕМБРАННОГО ДОМЕНА РЕЦЕПТОРА КОНЕЧНЫХ ПРОДУКТОВ ГЛИКИРОВАНИЯ RAGE

*Долотова С.М.^{1,2}, Бершацкий Я.В.^{1,2}, Плащинская Д.Д.^{1,2},
Ракитина Т.В.², Охрименко И.С.¹, Минеев К.С.², Бочаров Э.В.^{1,2}*

¹Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

²Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова РАН, Москва

Dolotova.SM@phystech.edu

Рецептор конечных продуктов гликирования (RAGE) - мембранный белок I типа, относящийся к семейству иммуноглобулинов. Он состоит из рецепторной внеклеточной части, трансмембранной (ТМ) α -спирали и внутриклеточного неупорядоченного С-концевого фрагмента. Рецептор активируется большим количеством лигандов - в основном это молекулы, склонные к накоплению в очагах воспаления - интерлейкины, амилоиды, белки семейства S100. RAGE связывается с адаптерными белками, которые запускают сигнальные каскады, связанные с иммунным ответом, развитием апоптоза, клеточным ростом и другими процессами. Таким образом, RAGE является паттерн-распознающим рецептором. Недавние исследования указывают на важную роль олигомеризации рецептора в передаче сигнала внутрь клетки, однако, точные молекулярные механизмы в настоящий момент плохо изучены.

RAGE экспрессируется в различных клетках во время развития организма, но во взрослом возрасте его экспрессия практически отсутствует, за исключением нейронов и альвеолоцитов. Однако, экспрессия RAGE резко увеличивается в воспалённых тканях. Повышенная экспрессия рецептора ассоциирована со многими патологическими состояниями организма, например, онкологическими заболеваниями и болезнью Альцгеймера. Более того, наличие мутаций в RAGE может быть причиной возникновения этих состояний. Широко исследовано влияние мутаций во внеклеточном домене на работу рецептора, но роль мутаций в ТМ домене остаётся неизученной.

В данной работе нами был разработан и оптимизирован протокол получения и очистки двух мутантных форм ТМ фрагментов - RAGEtm G365R и RAGEtm G368E. В бесклеточной системе экспрессии были получены тотально ¹⁵N- и ¹⁵N, ¹³C-изотопно меченые целевые белки для структурно-динамических исследований методами ЯМР-спектроскопии высокого разрешения. Кроме того, мы накопили наборы гетероядерных спектров ЯМР для ТМ фрагментов в мембраноподобной среде, мицеллах додецилфосфохолина, для отнесения химических сдвигов и расчета пространственной структуры. Из предварительного анализа спектров ЯМР следует, что оба ТМ фрагмента встроены в мицеллы и имеют α -спиральную конформацию.

ЯМР-исследования и биотехнологические работы были поддержаны Российским научным фондом (проект № 19-74-30014).

1.10. РАЦИОНАЛЬНЫЙ ДИЗАЙН В АКТИВНОМ ЦЕНТРЕ РИБОКИНАЗЫ ИЗ *E.coli* ПОЗВОЛИЛ УВЕЛИЧИТЬ УДЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТА В ОТНОШЕНИИ D-АРАБИНОЗЫ НА ПОРЯДОК

Заяц Е.А., Юровская Д.О., Каранов А.А., Абрамчик Ю.А., Есинов Р.С.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
eaz96post@gmail.com

Разработка эффективных подходов к получению важных для медицины модифицированных нуклеозидов является актуальной проблемой биотехнологии. В частности, каскадный синтез арабинозидов мог бы позволить значительно упростить технологию получения таких важных лекарственных средств как флударабин, видарабин, цитарабин и неларабин. Арабинозиды можно получать при помощи каскадов, включающих в себя рибокиназу (ec:2.7.1.15) - фермент, позволяющий начинать ферментативный синтез нуклеозидов с углеводного субстрата. Фактором, ограничивающим эффективность данного подхода, является низкая активность рибокиназ дикого типа в отношении D-арабинозы.

Для решения этой проблемы мы осуществили рациональный дизайн в активном центре рибокиназы из *Escherichia coli* (*EcoRK*) с целью увеличения активности данного фермента в отношении D-арабинозы. Симуляции молекулярной динамики в Gromacs позволили нам сопоставить положения D-арабинозы и природного субстрата D-рибозы в активном центре *EcoRK*. Сравнительное исследование *in silico* позволило выдвинуть гипотезу о том, что причиной низкой активности фермента в отношении D-арабинозы является стерический конфликт 2' гидроксильной группы этого субстрата и боковыми радикалами аминокислот Ala98, Ile100 и Ile110. На основании этой гипотезы мы выбрали мутации A98G, I100V, I110V и A98G/I100V для проведения исследований *in vitro*. Мы осуществили данные мутации, разработали технологию получения рекомбинантных ферментов и исследовали их субстратную специфичность. В результате, мутация A98G привела к увеличению k_{cat} в отношении арабинозы в 15 раз и снижению K_M в 1.5 раза. Двойная мутация A98G/I100V привела к увеличению k_{cat} в 9 раз, но при этом увеличила K_M в 1.5 раза. Для демонстрации практической применимости наших результатов мы осуществили каскадный синтез арабинозида 2-хлораденина при помощи мутанта A98G с на порядок меньшим количеством фермента в сравнении с диким типом, при этом не наблюдая снижения эффективности синтеза.

Данное исследование было осуществлено при поддержке Российского научного фонда (проект № 21-13-00429).

1.11. КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ШАПЕРОНИНА БАКТЕРИОФАГА ОВР *Pseudomonas fluorescens*

Зюркалова Д.В.¹, Джус У.Ф.¹, Курочкина Л.П.², Никулин А.Д.¹,
Габдулхаков А.Г.¹, Петрова Т.Е.³

¹Институт белка РАН, Пущино

²НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ, Москва

³Институт математических проблем биологии РАН, Пущино

dzyurkalova@yandex.ru

Шапероны играют важную роль в восстановлении нативной структуры денатурированного и/или агрегированного белка. На данный момент все известные шаперонины подразделяют на две группы: шаперонины группы I, найденные в прокариотических клетках, а также в эукариотических органеллах, и шаперонины группы II - локализованные в эукариотических клетках. С недавних пор стало известно, что и бактериофаги могут содержать гены собственных шаперонин-подобных белков. Одним из таковых является шаперонин бактериофага ОВР (*gp246*, ОВР). По данным крио-электронной микроскопии молекула ОВР представляет собой кольцевой гомо-гептамер, одинаковые субъединицы которого имеют разные конформационные состояния: три пары с конформациями А и В, и непарная субъединица с конформацией С, средней между А и В.

В данной работе мы получили улучшенное до 3,37 Å разрешение структуры с помощью метода рентгеноструктурного анализа. В отличие от структуры, полученной с помощью крио-электронной микроскопии, непарная субъединица гомо-гептамера ОВР в кристалле имеет конформацию А. Сравнение субъединиц в разных конформациях показывает, что их экваториальные домены почти идентичны. Основное различие между двумя конформациями - сдвиги и повороты элементов вторичной структуры среднего и апикального доменов. Также в кристалле кольцевые молекулы ОВР упакованы в своеобразные стопки, где кольца ориентированы экваториальными доменами друг к другу. Такая ориентация позволяет предположить, что двукольцевая морфология, характерная для бактериальных шаперонинов, может также реализовываться в ходе функционирования шаперонина ОВР.

Литература

1. Stanishneva-Konovalova T.B., Semenyuk P.I., Kurochkina L.P., Pichkur E.B., Vasilyev A.L., Kovalchuk M.V., Kirpichnikov M.P., Sokolova O.S. Cryo-EM reveals an asymmetry in a novel single-ring viral chaperonin. *J Struct Biol.* 2020 Feb 1;209(2):107439. doi: 10.1016/j.jsb.2019.107439. Epub 2019 Dec 21. PMID: 31870903.

1.12. ИССЛЕДОВАНИЕ РЕГУЛЯЦИИ СВОЙСТВ БЕЛКА НУКЛЕОФОСМИНА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ

Капитонова А.А.^{1,2}, Тугаева К.В.¹, Варфоломеева Л.А.¹, Бойко К.М.¹,
Кули Р.³, Случанко Н.Н.¹

¹ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³Государственный университет Орегона, Корваллис, США

anna-kapitonova99@mail.ru

Нуклеофосмин (NPM1, или B23/NO38/нуматрин) - многофункциональный белок семейства нуклеоплазминов, необходимый для биогенеза рибосом, нормальной пролиферации и дифференцировки клеток. В клетке NPM1 чаще всего находится в ядрышке в виде гомопентамера в кольце-подобной конфигурации, образованной с помощью консервативного N-концевого домена, но может также мигрировать в другие клеточные компартменты. Перемещения NPM1 между ядром и цитоплазмой контролируются посредством изменения олигомерного состояния и взаимодействия с другими клеточными факторами, тогда как равновесие мономер-пентамер регулируется при помощи фосфорилирования и взаимодействия с белками-партнёрами. Так, было показано, что фосфомиметическая мутация S48E в составе олигомерного домена, расположенная вблизи одного из функциональных NES (nuclear export signal) сигналов NPM1, ингибирует его олигомеризацию. Согласно недавним исследованиям, пептид, включающий фосфорилированный Ser48, также распознается регуляторными белками семейства 14-3-3.

В данной работе было исследовано фосфорилирование NPM1 под действием цАМФ-зависимой протеинкиназы (ПКА), влияние данной модификации на олигомерное состояние белка, а также получен и закристаллизован комплекс 14-3-3 ζ с пептидом, содержащим фосфо-Ser48. Для этого были получены рекомбинантные белки и их фосфорилированные формы в системе коэкспрессии с ПКА в *E.coli*. Методами аналитической гель-фильтрации и электрофореза в нативных условиях в системе Шауба-Перри было показано, что фосфорилирование NPM1 *in vitro* не приводит к разрушению пентамерной структуры, тогда как коэкспрессия позволяет получить множество фосфорилированный NPM1, не образующий пентамер дикого типа. Методом масс-спектрометрии было выявлено 10 различных сайтов фосфорилирования по Ser/Thr, в том числе обнаруживаемые *in vivo*. Кристаллическая структура комплекса 14-3-3 ζ с фосфорилированным пептидом NPM1 выявила структурные основы узнавания функционального пептида NPM1 белками 14-3-3, а также отличия в конформации этого пептида по сравнению с таковой в пентамере. Обнаруженные различия подтверждают ранее предположенный структурный полиморфизм нуклеофосмина, который может проявляться в различных физиологических состояниях клетки и регулироваться под действием фосфорилирования.

Работа поддержана грантом РФФ №19-74-10031.

1.13. ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ АНАЛОГОВ БАКТЕРИОЦИНА PLB-196 И ЕГО ГИБРИДОВ С АВИЦИНОМ А

Кононова Д.В.^{1,2}, Антошина Д.В.², Овчинникова Т.В.², Баландин С.В.²

¹Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова РАН, Москва

kononova.dv@phystech.edu

Распространение резистентных к антибиотикам штаммов бактерий делает необходимым поиск новых средств для борьбы с инфекционными заболеваниями. В качестве альтернативы традиционным антибиотикам в настоящее время рассматриваются антимикробные пептиды (АМП) из разных природных источников. К таким соединениям, в частности, относятся бактериоцины - рибосомально-синтезируемые АМП, которые продуцируются бактериями всех семейств в борьбе за экологическую нишу. Бактериоцины обладают высокой антимикробной активностью в отношении родственных продуцентов видов. При этом многие из них способны подавлять рост патогенных микроорганизмов, что в совокупности с низкой токсичностью открывает перспективы для их использования в медицине и ветеринарии. Кроме того, некоторых из этих соединений могут найти применение в пищевой промышленности в качестве консервантов.

Бактериоцин PLB-196 является представителем педиоцин-подобных бактериоцинов (подкласс IIa), которые имеют консервативный N-концевой мотив Y-G-N-G-V/L, называемый "педиоциновым боксом". Интерес к данному пептиду вызван нетипичным спектром активности, отличающим его от остальных представителей подкласса. Данная работа проводилась в рамках структурно-функционального исследования PLB-196 и состояла в получении и тестировании антимикробных свойств его укороченных рекомбинантных аналогов и гибридов с авицином А - классическим представителем педиоцин-подобных бактериоцинов - с целью поиска фрагментов, отвечающих за активность природного пептида. Рекомбинантные пептиды были получены путем гетерологической экспрессии в клетках *E. coli* BL21 (DE3), очищены с помощью металлохелатной хроматографии и обращенно-фазовой ВЭЖХ. Антимикробная активность полученных аналогов PLB-196 и его гибридов с авицином А была протестирована методом серийных разведений в жидкой питательной среде на панели штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий. Результаты тестов показали, что фрагменты аминокислотной последовательности пептида отличаются друг от друга спектром активности. Особый интерес представляют собой гибриды PLB-196 и авицина А, которые продемонстрировали смешанный спектр активности, характерный для обоих пептидов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 22-14-00380.

1.14. РАЗРАБОТКА ФОТОАФФИННЫХ ЗОНДОВ НА ОСНОВЕ ИНДАЗОЛА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЗМА АЛЛОСТЕРИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ALOX15

Конотопов В.О., Журавлев А.М., Голованов А.Б., Иванов И.В.

МИРЭА - Российский технологический университет, Москва
konotopov.vlad99@mail.ru

Фермент арахидонат-15-липоксигеназа (ALOX15) является представителем семейства диоксигеназ человека, региоселективно катализирующих реакцию перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот. Метаболиты арахидоновой и линолевой кислот, образуемые в организме человека при участии ALOX15, играют роль в процессах созревания клеток и передачи межклеточных сигналов, а также в развитии воспалительных и онкологических заболеваний. Было установлено, что активность ALOX15 можно модулировать воздействием аллостерических эффекторов. На данный момент обнаружено множество новых аллостерических эффекторов ALOX15, однако механизм их взаимодействия с ферментом, а также положение и структуру аллостерического центра связывания ещё только предстоит установить. В связи с этим, требуется применение новых подходов для решения данной задачи.

Для исследования механизма аллостерической регуляции ALOX15 было предложено использовать фотоаффинные зонды, способные ковалентно связаться с ферментом в его аллостерическом центре. В качестве основы для зонда был использован активатор (Е)-1-(7-бензилиден-3-фенил-3,3а,4,5,6,7-гексагидро-2Н-индазол-2-ил)-2-(4-метилпиперазин-1-ил)этан-1-он. В четвёртом положении пиперазинового фрагмента вместо метильной группы была введена пара-азидотетрафторбензильная группа за счёт образования амидной связи. Особенностью данной группы является образование крайне активного радикала при воздействии на неё УФ-излучением. В то же время, структура эффекторной части полученной молекулы полностью идентична исходному активатору. При связывании аллостерических центров фермента эффектором, воздействие интенсивным УФ-облучением приводит к образованию ковалентной сшивки между аминокислотными фрагментами белка, окружающих эффектор, что позволит установить местоположение и структуру активного центра при последующем протеолизе ALOX15 и анализе полученных пептидных фрагментов.

1.15. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ АМФИФИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ НА ОСНОВЕ ДИЭТАНОЛАМИНА С СИММЕТРИЧНЫМИ И АСИММЕТРИЧНЫМИ РАДИКАЛАМИ В ГИДРОФОБНОМ ФРАГМЕНТЕ

Короткин М.Д., Кузьмина Ю.Е., Себякин Ю.Л.

МИРЭА - Российский технологический университет, Москва
maks.korotkin.99@mail.ru

Ни для кого не секрет, что антибиотики являются величайшим достижением человечества. Однако иррациональное и безответственное использование данных лекарственных препаратов привело к возникновению одной из самых актуальных проблем современности, а именно - стремительному росту устойчивости микроорганизмов к применяемым антибиотическим средствам.

С каждым днем возрастает необходимость в поиске новых противобактериальных лекарственных средств. Хорошей альтернативой антибиотикам могут стать антимикробные пептиды (АМП) - класс низкомолекулярных пептидов с широким спектром антибактериальных свойств, являющихся частью системы иммунной защиты многоклеточных организмов. Основной мишенью этого класса соединений является бактериальная мембрана, вследствие чего резистентность микроорганизмов развивается медленно или вовсе отсутствует. Однако применение большинства АМП на практике ограничено, поскольку в ходе множества исследований *in vivo* был выявлен значительный гемолитический эффект.

Для решения данной проблемы создаются синтетические аналоги АМП. Одно из перспективных направлений - применение амфифильных пептидомиметиков или липопептидов. При этом главным условием является соблюдение определенных параметров структуры, необходимых для проявления активности. К основным структурно-зависимым свойствам относят амфифильную природу соединений, наличие одного или нескольких положительных зарядов, пороговую гидрофобность.

Цель настоящей работы состояла в определении зависимости активности новых амфифильных пептидомиметиков по отношению к грамположительным и грамотрицательным штаммам бактерий от структуры.

Биологическая активность соединений, полученных по предложенной нами схеме, была изучена *in vitro*. Значения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) производных глицина, бета-аланина и лизина против грамположительных (*Bacillus subtilis*) и грамотрицательных (*Escherichia coli*) бактерий составили соответственно 3,12 и 6,25 мкг/мл. Амфифилы, содержащие остаток орнитина в гидрофильном домене, обладают одинаковой активностью (МИК = 6,25 мкг/мл) как в отношении *B. subtilis*, так и *E. coli*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 20-04-00672).

1.16. МЕХАНИЗМ ИНГИБИРОВАНИЯ ПЕНИЦИЛЛИН-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА 2 ИЗ ШТАММОВ FA19, 35/02 И H041 *Nisseria gonorrhoeae* ЦЕФТРИАКСОНОМ

Кривицкая А.В.¹, Хренова М.Г.^{1,2}

¹ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

al_krivickaya@mail.ru

Пенициллин-связывающие белки (РВР2) катализируют последние стадии образования пептидогликана клеточной стенки бактерий. Из-за внешнего сходства субстрата РВР2 с антибиотиками, содержащими β-лактамное кольцо, они способны связываться с ферментом и, таким образом, ингибировать его действие, вызывать гибель бактерий.

В клинической практике известны случаи выявления резистентности РВР2 из штаммов возбудителя гонореи *Nisseria gonorrhoeae* к цефалоспориновым антибиотикам расширенного спектра действия. За возникновение резистентности отвечают мутации в гене *penA*, кодирующем РВР2 *N. gonorrhoeae*. Известны дикий штамм FA19, не проявляющий устойчивость к пенициллину, и штаммы 35/02 и H041, обладающие рядом мутаций, которые позволяют им быть высоко устойчивыми к действию антибиотиков, в том числе к антибиотику цефалоспоринового ряда цефтриаксону. Цефтриаксон на данный момент является ведущим препаратом, используемым в лечении гонореи. В 35/02 и H041 обнаружены мутации в области активного центра фермента, что изменяет положение субстрата в каталитическом кармане. Разница в константах эффективности ферментов (k_s/K_s) в реакции с цефтриаксоном составляет 150 раз, между FA19 и 35/02, и 2300 раз, между FA19 и H041, соответственно. Для FA19 из литературы известна константа ацилирования (k_a) и константа связывания (K_s). Но для мутантных форм определить индивидуальные параметры экспериментально не представляется возможным. Таким образом, на данный момент неизвестен молекулярный механизм реакции ингибирования РВР2 цефтриаксоном, также как и не выявлено на какой именно процесс, химическую реакцию или связывание субстрата, и как влияет возникновение мутаций ответственных за развитие резистентности.

В работе выполнено молекулярное моделирование механизма реакции ингибирования РВР2 из штаммов FA19, 35/02 и H041 антибиотиком цефтриаксоном методом КМ/ММ молекулярной динамики. Показано, что появление аминокислотных замен в белке РВР2 приводит к ослаблению взаимодействий субстрата с оксианионным центром, что уменьшает эффективность нуклеофильной атаки. Также появление аминокислотных замен в целом приводит к изменению механизма реакции гидролиза. Разрыв связи C-N и отрыв фрагмента антибиотика происходит последовательно в белке из штамма дикого типа и концертно в двух других случаях.

Работа выполнена при поддержке РФФ (проект 18-74-10056).

1.17. ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ИЗОФОРМ ТРОПОМИОЗИНА, УЧАСТВУЮЩИХ В ОНКОТРАНСФОРМАЦИИ

Логвинов А.С.^{1,2}, Нефедова В.В.², Матюшенко А.М.²

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

²ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

globulin992@gmail.com

Тропомиозин (Трм) - это актин-связывающий белок, регулирующий многочисленные функции актинового филамента. Поэтому неудивительно, что он участвует в патогенезе множества заболеваний. При опухолях мочевого пузыря, почек, груди и мозга было показано изменение изоформного состава Трм. Предполагается, что эти перестройки напрямую влияют на устройство актинового филамента, на его взаимодействие с белками партнерами и ведут к злокачественным трансформациям. В нашей работе были получены структурно-функциональные данные взаимодействия между актиновым филаментом и изоформами тропомиозина, характерными для раковых перерождений. Отдельное внимание было уделено взаимодействию Трм с кофилином-1 - одному из основных белков, ответственному за перестройку актиновых структур.

В своей работе мы охарактеризовали структурные и функциональные свойства изоформ Трм2.1, Трм2.2, Трм 2.2 S283D, Трм3.1, Трм4.1 и Трм4.2. Мутация S283D в Трм2.2 имитировала природное фосфорилирование, которое, как было показано, обеспечивает большую защищенность актинового филамента. На основе данных КД и ДСК изоформы разделились на две группы. В первой группе мы отнесли изоформы с низкой термостабильностью, а именно Трм2.1, Трм2.2, Трм2.2 S283D и Трм4.1. Температурный переход на кривых плавления для них был в районе 40-42°C. Остальные изоформы (Трм3.1 и Трм4.2) имели большую термостабильность. Интересно отметить, что изоформы Трм, обладающие меньшей стабильностью молекулы, имели более высокое сродство Трм к F-актину и наоборот. Стабильность комплексов Трм с актином была в прямой зависимости от стабильности молекул. При разборке актинового филамента под действием кофилина-1 часть изоформ (Трм3.1 и Трм4.2) ускоряла этот процесс, а часть ингибировала. Это указывает на изоформ-зависимую регуляцию активности кофилина-1 от Трм.

Экспериментально показано, что структурно-функциональные свойства изученных изоформ Трм существенно различаются. Различия в свойствах Трм могут лежать в основе регуляции взаимодействия актина с белками партнерами, что играет важную роль в раковой трансформации клеток и метастазировании.

Работа поддержана грантом Президента МК-5708.2021.1.4.

1.18. МИНИАТЮРИЗАЦИЯ АСТАКСАНТИН-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА (AstaP) ИЗ ЭУКАРИОТИЧЕСКОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ

Лунегова Д.А.¹, Слонимский Ю.Б.¹, Егоркин Н.А.¹, Максимов Е.Г.², Случанко Н.Н.¹

¹ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

dasha-lun@mail.ru

Каротиноиды - органические пигменты, обуславливающие разнообразные биологические функции. Практическое применение данных соединений в биотехнологии и медицине осложнено их гидрофобной химической природой, и одним из решений данной проблемы являются водорастворимые каротиноид-связывающие белки (КСБ). Понимание структурных и функциональных особенностей взаимодействия подобных белков с каротиноидами открывает новые перспективы их использования в качестве модулей доставки и хранения данных соединений, а также облегчает поиск новых белков с подобными свойствами.

Особый интерес благодаря небольшой молекулярной массе и широкому репертуару связываемых каротиноидов, важных для здоровья человека, вызывает астаксантин-связывающий белок (AstaP) из зеленых водорослей рода *Scenedesmus*. На основе предсказания структуры AstaP нейросетью AlphaFold2, а также анализа множественного выравнивания последовательности белка AstaP-orange1 с последовательностями его гомологов AstaP-pink1 и AstaP-pink2, было выдвинуто предположение, что за связывание каротиноида ответственна центральная относительно консервативная часть молекулы. Целью данной работы было выяснение функционального значения центрального и N- и C-концевых участков AstaP-orange1 путем его миниатюризации методами геной инженерии.

При экспрессии в каротиноид-продуцирующих штаммах *E. coli* как AstaP-orange1, лишенный N- и C-концевых сегментов (AstaP Δ NC), так и укороченный гомолог AstaP-pink1, соответствующий по длине центральному домену AstaP-orange1, эффективно экстрагировали каротиноиды из мембран и образовывали холоформы с зеаксантином, кантаксантином и астаксантином, демонстрируя близкие полноразмерному белку репертуары связывания. Методом гель-спектрохромографии было показано, что AstaP Δ NC также сохранил способность транспортировать каротиноид зеаксантин в неродственный КСБ цианобактерий. Связывание зеаксантина с центральным доменом AstaP приводит к почти полному тушению флуоресценции остатка Trp59. Начато исследование структуры AstaP в комплексе с каротиноидами.

Работа поддержана грантом РФФИ-DFG 20-54-12018.

1.19. РЕКОНСТРУКЦИЯ РЕАКЦИИ МОДИФИКАЦИИ ЛАНТИПЕПТИДОВ ФЕРМЕНТОМ ЛАНТИОНИН- СИНТЕТАЗОЙ III КЛАССА AncKC

Мирзоева Н.З.¹, Пипия С.О.¹, Мокрушина Ю.А.^{1,2}, Габибов А.Г.^{1,2},
Смирнов И.В.^{1,3}, Терехов С.С.^{1,2}

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

³НМИЦ эндокринологии МЗ РФ, Москва

mirzoevanis@yandex.ru

Распространение микроорганизмов с множественной резистентностью к антибиотикам представляет серьезную угрозу глобальному здравоохранению. Именно поэтому разработка новых препаратов, обладающих антимикробными свойствами, является приоритетной задачей. Пептиды представляют особый интерес в этой области благодаря высокоэффективному механизму действия, основанному на разрушении мембран бактериальных клеток. Лантипептиды - это группа рибосомально-синтезированных и посттрансляционно-модифицированных пептидов, продуцируемых грамположительными бактериями. Генетически кодируемая природа лантипептидов позволяет вносить изменения в их структуру, а разнообразие посттрансляционных модификаций увеличивает химическое пространство получаемых молекул, что делает их идеальными кандидатами для разработки новых антибиотиков. На сегодняшний день выделяют 4 класса лантипептидов, основываясь на различиях в строении ферментов, осуществляющих модификацию. Наименее изученными являются лантионин-синтетазы III и IV классов. Целью данной работы было исследование функциональных особенностей фермента лантионин-синтетазы класса III (AncKC) путем реконструкции реакции модификации природного субстрата, а также изучение способности данного фермента модифицировать лантипептиды других классов. В ходе данной работы методом гетерологической экспрессии в *Escherichia coli* были наработаны фермент AncKC, а также предшественники лантипептидов андалусина и лактицина. Полученные рекомбинантные молекулы были предварительно очищены с помощью металл-хелатной аффинной хроматографии и твердофазной экстракции, а затем использованы для реконструкции реакции модификации *in vitro*. Масс-спектрометрический анализ реакционной смеси подтвердил внесение модификаций в молекулы пептидов, что свидетельствует об успешной реконструкции реакции *in vitro*. Полученные результаты позволяют расширить понимание особенностей работы фермента AncKC и в дальнейшем использовать эти данные для создания новых антимикробных препаратов на основе лантипептидов.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №21-14-00357.

1.20. СТРУКТУРНЫЕ И ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДИМЕРИЗАЦИИ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА КАПИТЕЛЛАЦИНА В МЕМБРАНОПОДОБНОЙ СРЕДЕ

Миронов П.А.^{1,2}, Парамонов А.С.², Резникова О.В.^{1,2}, Сафронова В.Н.²,
Пантелеев П.В.², Болосов И.А.², Овчинникова Т.В.^{1,2}, Шенкарев З.О.²

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова РАН, Москва

pavel.mironov@student.msu.ru

Антимикробные пептиды (АМП) - важный компонент врожденной иммунной системы беспозвоночных и позвоночных животных, а также растений и грибов. В настоящее время природные АМП рассматриваются в качестве прототипов нового класса лекарственных препаратов для борьбы с инфекционными патогенами. Благодаря своим амфипатическим свойствам и общему положительному заряду многие АМП могут избирательно взаимодействовать с анионными мембранами бактериальных клеток. Агрегация пептидов в мембране, в том числе и с образованием олигомерных трансмембранных пор, может приводить к нарушению целостности липидного бислоя и, в конечном счете, к смерти или лизису бактериальной клетки. Однако, образование олигомерных пор в мембране не является необходимым условием для антимикробной активности. Многие АМП действуют по "ковровому" механизму, когда агрегация пептидов на поверхности мембраны приводит к мецеллизации липидного бислоя.

Капителлацин представляет собой β -спилечный АМП из морской полихеты *Capitella teleta*. Капителлацин проявляет антимикробную активность в отношении широкого спектра грамположительных и грамотрицательных бактерий, включая антибиотикорезистентные штаммы. Для установления механизма действия капителлацина был получен его ¹⁵N-меченый аналог и исследована структура в мембраноподобной среде мицелл додецилфосфохолина (DPC) методом ЯМР-спектроскопии высокого разрешения.

В этой работе мы показали, что в мицеллах DPC капителлацин одновременно существует в двух различных формах, в виде мономера и димера. В обоих случаях пептид имеет структуру β -шпильки, а димер образуется за счет антипараллельной ассоциации *N*-концевых β -тяжей мономеров ($CN\uparrow\downarrow NC$) и стабилизирован 8 межмолекулярными водородными связями. Димер капителлацина погружается в мицеллу только одной стороной широкого β -листа, включающего четыре тяжа. Поверхностный способ взаимодействия с мицеллой предполагает "ковровый" механизм мембранной активности. Наличие обратимых переходов между мицеллосвязанными димером и мономером, наблюдаемых при изменении температуры и концентрации детергента, позволило изучить термодинамику процесса димеризации. Невысокая эффективность димеризации пептида объясняет его сравнительно невысокую антимикробную активность.

1.21. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИПА МЕХАНИЗМА ФЕРМЕНТАТИВНОГО РАЗРЫВА Р-О СВЯЗИ В НУКЛЕОЗИДФОСФАТАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭЛЕКТРОННО-ПЛОТНОСТНЫХ КРИТЕРИЕВ

Мулашкина Т.И.¹, Кулакова А.М.¹, Хренова М.Г.^{1,2}, Немухин А.В.^{1,3}

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

²ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

³Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва
mulashkinati@my.msu.ru

Важнейшая группа биохимических реакций проходит с разрывом Р-О связи в нуклеозидфосфатах. На протяжении нескольких десятилетий обсуждается проблема определения типа механизма, по которому протекает гидролиз сложных эфиров фосфорной кислоты: диссоциативному или ассоциативному. Различия в этих механизмах заключаются в количестве стадий (ассоциативный - одностадийный, диссоциативный - многостадийный процесс), а также в структуре переходного состояния. Определение типа механизма экспериментально или вычислительно - трудоемкая задача, поэтому мы предлагаем способ определения механизма реакции основываясь только на анализе электронной плотности в структуре фермент-субстратного комплекса.

В данной работе рассматривались реакции гидролиза гуанозинтрифосфата (GTP) до гуанозиндифосфата (GDP) в активных центрах комплексов Ras-GAP, Ran-GAP и Arl3-RP2, реакции гидролиза циклического димерного гуанозинмонофосфата (c-di-GMP) в активном центре EAL домена и превращения аденозинтрифосфата (ATP) в циклический аденозинмонофосфат (cAMP) в активном центре аденилатциклазы mAC и фоторегулируемой аденилатциклазы bPAC.

В работе применяется комбинированный метод квантовой механики/молекулярной механики (КМ/ММ) для определения геометрических параметров минимумов на поверхности потенциальной энергии, соответствующих фермент-субстратным комплексам. Далее производится расчет лапласиана электронной плотности $\nabla^2\rho(r)$ вдоль разрываемой связи Р-О. Это позволяет определить механизм дальнейшей реакции. Если вдоль линии связи наблюдается плато с $\nabla^2\rho(r) > 0$, это показывает склонность к разрыву связи между атомом фосфора и уходящей группой, что способствует протеканию нуклеофильного замещения по диссоциативному механизму. В случае ассоциативного механизма наблюдается плато с $\nabla^2\rho(r) < 0$.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (проект № 19-73-20032).

1.22. НОВАЯ КАЛЬЦИЙ-ЗАВИСИМАЯ ПЕПТИДОГЛИКАНГИДРОЛАЗА БАКТЕРИОФАГА 3

Aeromonas sp.

Мусаева А.А.^{1,2}, Чернышов С.В.¹, Молочков Н.В.³, Прохоров Д.А.³,
Микулинская Г.В.^{1,2}

¹Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущино

²Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино

³Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино
musaeva_ayajan@mail.ru

Эндолизины - это литические ферменты бактериофагов, которые обеспечивают деструкцию пептидогликана клеточной стенки и высвобождение потомства фага на заключительной стадии развития фага. Эти белки обладают большим биотехнологическим потенциалом: будучи примененными извне, они способны разрушать пептидогликан клеточной стенки и вызывать гибель бактерий вследствие осмотического лизиса.

В геноме бактериофага 3 (Myoviridae), который заражает бактерии рода *Aeromonas*, был обнаружен ген, кодирующий потенциальный эндолизин длиной 135 аминокислот, гомологичный ферментам группы L-аланил-D-глутаматпептидаз (GenBank APU00465.1). Гипотетический белок содержал неканоническую EF-подобную кальций-связывающую петлю, впервые обнаруженную у эндолизина бактериофага T5 (Siphoviridae). Путем синтеза гена на основе вектора pET28a была получена рекомбинантная плазмида, содержащая искусственный ген, кодирующий последовательность природного белка. Растворимый белок нарабатывали в клетках *E. coli* BL21(DE3) посредством индукции 0.05 мМ IPTG в течение 15 часов при температуре 20°C. Электрофоретически гомогенный препарат получали с помощью последовательных хроматографий на Toyopearl DEAE 650M и фосфоцеллюлозе. Выход по активности составил 13.7%, степень очистки - 4.9; максимальная удельная литическая активность составила 4482±299 Ед/мг белка. Концентрация Трис-НСl буфера для максимальной активности фермента 25-50 мМ. Оптимальный уровень рН лежит в диапазоне от 8.5 до 9.5. Фермент является кальций-зависимым: ингибируется хелаторами широкого спектра (EGTA, EDTA) и специфичным к кальцию хелатором ВАРТА. Активность после ингибирования полностью восстанавливается добавлением ионов Са²⁺ или Мп²⁺. Фермент термолabile и необратимо инактивируется при температуре выше 50°C. Исследования структуры белка в растворе показало, что фермент в лишенной ионов апоформе имеет выраженный гидрофобный кор, плотность упаковки которого возрастает при связывании иона Zn²⁺. Связывание ионов кальция Zn²⁺-содержащей формой фермента приводит к дальнейшей стабилизации пространственной структуры. По содержанию α-спиральных (44.9%) и β-складчатых структур (6%) исследуемую пептидогликангидролазу можно отнести к глобулярным белкам α+β класса.

Таким образом, гипотетический белок APU00465.1 - кальций-зависимая пептидогликангидролаза.

1.23. ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА ПЕПТИДА SEM1(68-107) ПО ДАННЫМ ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ И МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Осетрина Д.А., Юльметов А.Р., Бикмуллин А.Г., Клочков В.В., Блохин Д.С.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань
d.sanchugova@yandex.ru

Белок семеногелин-1 секретируется в семенных пузырьках. Во время эякуляции он расщепляется на небольшие пептидные фрагменты с помощью внутренних протеаз. Было показано, что некоторые из этих пептидных фрагментов (SEM1(86-107), SEM1(68-107), SEM1(49-107) и SEM1(45-107),) образуют амилоидные фибриллы, которые увеличивают инфекционную активность ВИЧ. Для понимания процесса фибрилляции необходима информация о пространственной структуре пептидов.

Целью нашей работы являлось установление пространственной структуры пептида SEM1(68-107) методом ЯМР-спектроскопии. Для этого был экспрессирован SEM1(68-107) обогащенный по изотопам ^{13}C и ^{15}N . На основе 2D и 3D ЯМР-спектров сделано отнесение химических сдвигов ядер ^1H , ^{13}C , ^{15}N пептида. Анализ NOESY-спектров с различными временами смешивания показал, что все спектры содержат только тривиальные сигналы, что не позволило рассчитать структуру SEM1(68-107). Поэтому для определения пространственной структуры SEM1(68-107) был применен комплексный подход, основанный на использовании геометрических ограничений пептидных фрагментов (SEM1(68-85) и SEM1(86-107)) и молекулярном моделировании. Значения межъядерных расстояний и двугранных углов SEM1(68-85) и SEM1(86-107), полученных из анализа ЯМР-спектров, использовались в качестве входных данных для расчета пространственной структуры SEM1(68-107) в программе XPLOR-NIH методом нелинейного отжига. Далее было выполнено полноатомное молекулярное моделирование полученной структуры. Оценка структурных изменений моделирования SEM1(68-107) показала, что концевые области SEM1(68-107) демонстрируют сильные конформационные изменения, а центральная область остается стабильной. Вторичная структура SEM1(68-107) в основном представляла собой случайный клубок, но несколько фрагментов проявляли наличие вторичной структуры: N-домен (70His-84Gln) представлял собой α -спираль; участки (86Asp-94Thr) и (101Gly-103Ser) представляли собой 3_{10} -спирали.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 20-73-10034).

1.24. ЗАЩИТНЫЕ АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ ЖИВОТНЫХ: ОТ ИЗУЧЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ДО ПРОТОТИПОВ НОВЫХ АНТИБИОТИКОВ

***Пантелеев П.В., Болосов И.А., Сафронова В.Н., Баландин С.В.,
Овчинникова Т.В.***

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
p.v.panteleev@gmail.com

Открытие антибиотиков в XX веке произвело революцию во многих областях медицины, однако с каждым годом создание и введение в медицинскую практику новых противомикробных средств становится все более редким событием. Для большинства направлений в фармацевтике существует прямая и очевидная связь между накопленными знаниями и возможностью создавать новые эффективные препараты. Удивительно, но после завершения "золотой эры" антибиотиков для этих соединений наблюдается обратная зависимость. Закономерным итогом этого процесса стал так называемый "кризис антибиотикорезистентности", который уже сейчас является глобальной медицинской и социальной проблемой. Значительное внимание ведущих мировых научных групп и фармацевтических компаний уделяется сейчас исследованию рибосомально синтезируемых катионных антимикробных пептидов (АМП) - ключевых молекулярных факторов врожденного иммунитета живых организмов. За время исследования АМП об этих молекулах сложилось устойчивое представление как об исключительно детергент-подобных соединениях, главной мишенью которых является мембрана микроорганизмов. Однако, в последние годы все больше исследований указывают на то, что многие АМП имеют специфические внутриклеточные молекулярные мишени (например, бактериальные рибосомы), а также белковые мишени на поверхности клеток, а их мембранолитическое действие проявляется в диапазоне концентраций, существенно превышающих значения минимальных ингибирующих концентраций (МИК). Арсенал АМП у каждого вида составляет от 2-3 соединений до нескольких десятков пептидов. Очевидно, что успех в обнаружении новых антибиотиков и АМП зависит от создания эффективного и универсального подхода, лежащего в основе поиска. На сегодняшний день в мире осуществлено секвенирование геномов и транскриптомов нескольких тысяч видов животных, что в совокупности является богатым источником для поиска новых АМП.

В данной работе представлены результаты поиска и анализа биоразнообразия новых АМП животных, в частности, млекопитающих и морских беспозвоночных, а также приведены данные по изучению механизмов антибактериального действия новых АМП и созданию их модифицированных аналогов с улучшенными терапевтическими свойствами. Полученные данные демонстрируют высокую эффективность отобранных АМП на животных моделях бактериальных инфекций, что позволяет рассматривать эти молекулы в качестве перспективных прототипов антибиотиков.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ (соглашение № 21-74-00100).

1.25. КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА БАКТЕРИАЛЬНОЙ ОЛИГОПЕПТИДАЗЫ ОрВ В ЗАКРЫТОЙ КОНФОРМАЦИИ: СХОДСТВО И РАЗЛИЧИЕ ФЕРМЕНТОВ ПРОСТЕЙШИХ И БАКТЕРИЙ

Петренко Д.Е.¹, Агапова Ю.К.¹, Тимофеев В.И.², Михайлова А.Г.³,
Ракитина Т.В.³

¹НИЦ Курчатовский институт, Москва

²ФНИЦ Кристаллография и фотоника РАН, Москва

³Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова РАН, Москва

Dmitry.e.petrenko@gmail.com

Олигопептидаза В (ОрВ) представляет собой трипсиноподобную сериновую пептидазу из семейства пролилолигопептидаз (РОР), гены которой обнаружены только в геномах бактерий и одноклеточных паразитических простейших. Фармакологическая значимость ОрВ определяется способностью фермента расщеплять многие физиологически-важные ферменты человека и антибактериальные пептиды. Ключевыми особенностями ОрВ являются двухдоменная архитектура и переход между различными конформационными состояниями. Два домена и остатки каталитической триады находятся близко друг к другу в закрытом (активном) состоянии, которое было выявлено в кристаллических структурах ОрВ простейших, связанных с ингибитором. Пространственное расхождение доменов и нарушение каталитической триады характеризуют открытое (каталитически неактивное) состояние, которое наблюдали в кристалле свободного фермента из *Trypanosoma brucei* (ТбОрВ) и в растворе бактериальной ОрВ из *Serratia proteomaculans* (SpОрВ) методом малоуглового рентгеновского рассеяния. Сравнение ТбОрВ и бактериальных РОР в открытом и закрытом состояниях свидетельствует о связи движения доменов со сборкой/разборкой каталитической триады в ходе каталитического цикла. Согласно биоинформатическому анализу, ключевые остатки, ответственные за эту связь, отсутствуют в более чем в половине бактериальных ОрВ. С целью объяснения этого феномена, мы получили пространственную структуру бактериального фермента, несущего соответственные замены, в закрытом состоянии и сравнили структурные детерминанты каталитической активации у ОрВ бактерий и простейших.

Данная работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 21-74-20154) и технической поддержке ЦКП "Биоорганика" ИБХ РАН.

1.26. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ДЕСКРИПТОРЫ И МЕТОДЫ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВОЗМОЖНОСТИ ПРОТЕКАНИЯ РЕАКЦИИ ГЕТЕРОГЕННОГО КАТАЛИЗА

Петрова В.В.^{1,2}, Соловьев Я.В.¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
v.k.1510121@gmail.com

Изучение элементарных стадий каталитических реакций является одной из наиболее актуальных задач современной химии. Сегодня, наряду с экспериментальными методиками, активно развиваются подходы компьютерного моделирования, в частности алгоритмы *ab initio* метадинамики. Однако *ab initio* метадинамика - это крайне ресурс- и времязатратный расчет. Кроме того, поскольку он является стохастическим, требуется проведение повторных экспериментов, особенно в случае негативных контролей.

Применение машинного обучения для предварительной оценки возможности протекания реакции может существенным образом сократить времязатраты. Базовыми условиями его эффективности являются релевантность обучающей выборки, выбор дескрипторов (метрик) и сам алгоритм. Целью нашей работы был подбор физических дескрипторов, отражающих ключевые стадии гетерогенного катализа в системе вода-фермент - сорбции реагента и его химическое превращение на примере реакции ковалентной модификации антитела A17 L47K 87 модельными фосфорорганическими соединениями и пестицидами. Барьер реакции предварительно вычислялся методами *ab initio* метадинамики в программах DFTB+/Plumed [1,2]. Процесс сорбции был аппроксимирован COSMO (Conductor-like Screening Model) поверхностью молекул, отражающих эффективность взаимодействия молекул воды с каждым участком молекулы-сольвата, созданных в программе MOPAC2016 [3]. Для описания химических связей использовалась теория Бейдера, в частности, параметры электронной плотности и электронной энергии в критических точках второго типа. На следующем этапе подбирались методы машинного обучения, опирающиеся на большое число метрик и не приводящие к переоценке одной из них. Данный подход позволяет не только оценить возможность протекания реакции для выбранного вещества, но и установить ключевые параметры поверхности и электронной плотности, влияющие на ее эффективность.

Литература

1. DFTB+, a software package for efficient approximate density functional theory based atomistic simulations; J. Chem. Phys. 152, 124101 (2020)
2. The PLUMED consortium. Promoting transparency and reproducibility in enhanced molecular simulations, Nat. Methods 16, 670 (2019)
3. MOPAC2016, James J. P. Stewart, Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA, HTTP://OpenMOPAC.net (2016)

1.27. ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ПЕПТИДА PG-1 В ОТНОШЕНИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ МОЗГА

Рудель А.Е., Филатенкова Т.А.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург
alenarudel@gmail.com

Несмотря на успехи в области медицины за последние время, многие лекарства от рака обычно не обладают специфичностью, они также убивают здоровые клетки, подвергающиеся быстрой пролиферации, что приводит к токсическим эффектам. Еще одним ограничением химиотерапии является развитие резистентности. Таким образом, более эффективной альтернативой могут быть другие классы лекарств, со свойствами специфически воздействовать на раковые клетки без токсичности и низкой тенденцией к развитию устойчивости. Возможным решением могут являться антимикробные пептиды (АМП).

Целью исследования является установление противоопухолевой активности пептида PG-1 в отношении опухолевых клеточных линий мозга.

Материалы. Клеточные культуры: С6 и U-251 глиома крысы и человека соответственно, K562 - эритромиелома человека (взята как контроль опухолевой культуры), Eahy 926 - гибридные эндотелиоциты человека (взяты как "нормальный" контроль). В качестве рабочих концентраций были выбраны четыре серийных разведения 4, 8, 16 и 32 мкМ.

Методы. Исследование включало в себя культивирование клеток; подсчет клеток в камере Горяева с использованием витального красителя трипанового синего (ТС); Оценка цитотоксического действия препаратов в отношении клеток с использованием МТТ-теста; измерение оптической плотности раствора в планшете.

В исследовании использовали два вида контролей: 1) положительный контроль (100% жизнеспособных клеток, стерильная питательная среда с клетками); 2) отрицательный контроль (0% жизнеспособных клеток, стерильная питательная среда без клеток). Для контроля сопоставимости результатов МТТ-теста производили подсчет клеток в камере Горяева.

Результаты МТТ-теста показывают, что PG-1 сильнее подавляет Eahy 926, в то время как опухолевые клетки более устойчивы к его действию. Однако, при сравнении опухолевых линий глиом видно, что более устойчивая линия K 562. При использовании МТТ-теста результаты выше, чем при использовании ТС, что может свидетельствовать о том, что PG-1 стимулирует метаболическую активность при малых концентрациях. Также были вычислены пятидесятипроцентные ингибирующие концентрации (ic-50) для всех клеточных линий; по результатам эксперимента ic-50 K562 близка к литературным данным, значения для С6 и Eahy 926 довольно близки друг другу, в то время как для глиомы человека данное значение составило 22,4 мкМ.

1.28. ФРАГМЕНТАЦИЯ ОСНОВНОГО БЕЛКА МИЕЛИНА 20S И 26S ПРОТЕАСОМАМИ С РАЗЛИЧНЫМИ КАТАЛИТИЧЕСКИМИ ФЕНОТИПАМИ

Саратов Г.А., Новосёлов А.Л., Белогуров А.А., Кудряева А.А.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
saratov.ga@phystech.edu

Протеасома - мультисубъединичный протеиназный комплекс с тремя каталитическими субъединицами, каждая из которых имеет свою субстратную специфичность. В зависимости от состава каталитических субъединиц протеасомы бывают конститутивными ($\beta 1$ - специфичность по типу каспазы, $\beta 2$ - по типу трипсина, $\beta 5$ - по типу химотрипсина) и иммунными ($\beta 1i$, $\beta 2i$, $\beta 5i$), причем активность иммунопротеасомы смещена в сторону химотрипсин-подобной активности. 20S протеасома способна связываться с одной или двумя 19S регуляторными частицами, образуя, соответственно, 26S и 30S протеасомы. Нами были созданы клеточные линии 293T и HeLa, стабильно экспрессирующие субъединицы 20S протеасомы: $\beta 7$ (PSMB4), $\beta 5$ (PSMB5), $\beta 5i$ (PSMB8) и субъединицу 19S регуляторной частицы PSMD14, слитные с тегом НТВН [6xHis- TEV protease site-Biotin- 6xHis]. Была оптимизирована одноэтапная методика выделения протеасом из полученных клеточных линий и всесторонне охарактеризованы высокоомогенные, конститутивные и иммунные препараты 20S и 26S протеасом человека. Полученными протеасомами была проведена фрагментация одного из главных аутоантигенов при рассеянном склерозе - основного белка миелина (МВР), подвергающегося гидролизу протеасомой убиквитин-независимо. Спектр пептидов МВР, полученных в ходе деградации белка иммунопротеасомой, преимущественно соответствует спектру пептидов, способных презентироваться на аллелях МНС I класса, ассоциированных с предрасположенностью к рассеянному склерозу.

Исследование выполнено при поддержке проекта Российского научного фонда №21-74-10154.

1.29. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕМСОДЕРЖАЩИХ БЕЛКОВ НЕЙРОГЛОБИНА И ЦИТОХРОМА С МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ

Семенова М.А.¹, Бочкова Ж.В.^{1,2}, Смирнова О.М.¹, Браже Н.А.^{1,2}, Максимов Г.В.^{1,2}, Долгих Д.А.^{1,2}, Черткова Р.В.¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
marinaapbch@mail.ru

Гемсодержащий белок нейроглобин (Ngb) из нейрональных клеток обладает нейропротекторной функцией, однако, механизмы его действия до конца не известны. Одна из наиболее популярных гипотез основана на взаимодействии Ngb с митохондриальным цитохромом *c* (Cyt *c*), в результате которого предотвращается запуск апоптоза по Cyt *c*-зависимому пути. В связи с этим представляется актуальным исследование механизмов взаимодействия Ngb с Cyt *c*, понимание которых позволит перейти к рациональному дизайну новых терапевтических средств для ингибирования гибели нейрональных клеток в условиях ишемии и гипоксий различного генеза.

Нами разработана эффективная система для наработки рекомбинантного Ngb. На основе плазмиды pET17b (Novagen, США) сконструирован вектор, содержащий ген человеческого Ngb, для экспрессии в бактериальной системе. Подобраны оптимальные условия экспрессии гена Ngb в штамме *S.Huffle E. coli*, выделения и очистки белка, позволяющие получить до 10 мг Ngb с 1 л культуры клеток. Спектральные характеристики рекомбинантного белка, полученные с помощью УФ-видимой- и КД- спектроскопий, соответствовали холоформе Ngb.

Окислительно-восстановительную (ОВ) реакцию между Ngb и Cyt *c* (наработанным с использованием системы pBP(CYC1/CYC3)) исследовали при помощи спектроскопии комбинационного рассеяния (КР) с использованием лазерного возбуждения с длиной волны 532 нм. Установлено, что интенсивность сигнала КР у окисленных форм исследуемых белков существенно ниже, чем у восстановленных, что позволяет осуществлять чувствительную детекцию появления в системе восстановленного Ngb или Cyt *c*. Также мы показали, что спектры КР Cyt *c*(Fe²⁺) и Ngb обладают характерными высоко специфическими пиками в области 300–700 см⁻¹ и пиком при положении максимума при 1348 см⁻¹, соответственно. Указанные спектральные отличия позволяют различать эти белки и выявлять появление Cyt *c*(Fe²⁺) по спектрам КР, зарегистрированным от раствора Ngb(Fe²⁺) после добавления Cyt *c*(Fe³⁺). Мы показали, что в растворе Ngb(Fe²⁺) и Cyt *c*(Fe³⁺) протекает ОВ реакция. Мы предполагаем, что она сопровождается сдвигом гема Cyt *c* в полости белка за счет изменения параметров C-S связей между гемом и Cys14 и Cys17 Cyt *c*.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-24-00985).

1.30. ИЗУЧЕНИЕ СПОСОБНОСТИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФРАГМЕНТОВ ТОКСИНОВ C_{ru} К ФОРМИРОВАНИЮ АМИЛОИДОПОДОБНЫХ АГРЕГАТОВ

Смирнов К.В.^{1,2}, Белоусов М.В.^{1,2}, Нижников А.А.^{1,2}, Антонце К.С.^{1,2}

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

²ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Пушкин

kirill.vad.smirnov@gmail.com

Первоначально амилоиды были ассоциированы с патогенезом, однако, со временем, стало известно о функциональных амилоидах, необходимых организму для реализации жизненно-важных функций у млекопитающих, рыб, членистоногих, растений, бактерий и архей. Таким образом, поиск новых белков способных к амилоидогенезу, изучение их свойств, а также их функциональной роли *in vivo* является крайне интересной и перспективной областью, прогресс в которой может позволить иначе взглянуть на ряд молекулярных и адаптационных процессов. Трехдоменные протоксины C_{ru} представляют собой *in vivo* кристаллизующиеся белки, состоящие из трех доменов, и двух участков (N- и C-концевого), которые удаляются при ограниченном протеолизе, происходящем в пищеварительной системе членистоногого.

Целью работы было установить, агрегируют ли продукты ограниченного протеолиза и изучить морфологию формирующихся агрегатов.

Проведено электрофоретическое разделение (SDS-PAGE) продуктов ограниченного трипсинолиза выделенных солюбилизованных токсинов C_{ru}, продуцируемых *B. thuringiensis* трех различных сероваров: var. *thuringiensis*; var. *israelensis*; var. *darmsyadiensis*, осуществлена серия инкубаций полученных фрагментов с их последующим электрофоретическим разделением и окраской Конго красным.

Установлено, что ограниченный трипсинолиз токсинов *in vitro* проходил по определенным сайтам, а дальнейшая инкубация в нейтральной среде не приводит к формированию агрегатов. Вместе с тем, при некоторых pH, подобранных исходя из расчетов изоэлектрических точек, продукты ограниченного протеолиза токсинов C_{ru} образуют агрегаты. Полученные микропрепараты позволили оценить морфологию формируемых структур, а окраска Конго красным - идентифицировать фибриллоподобные агрегаты.

Было выявлено, что продукты ограниченного протеолиза токсинов C_{ru} способны образовывать агрегаты, причем как аморфные, так и обладающие фибриллоподобной структурой, дающие характерное двулучепреломление при окраске Конго красным. При этом процесс агрегации зависит от pH среды и усиливается в слабокислых условиях, что скорее всего связано с приближением к условиям активации C_{ru} токсинов в кишечнике членистоногих.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 20-76-10044).

1.31. НЕОБЫЧНЫЕ СПЕКТРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ОДНОГЕМОВОВОГО ЦИТОХРОМА *c* ИЗ ГАЛОАЛКАЛОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ РОДА *Thioalkalivibrio*

Соловьева А.Ю.¹, Варфоломеева Л.А.¹, Дергоусова Н.И.¹, Тихонова Т.В.¹,
Попов В.О.^{1,2}

¹ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

²НИЦ Курчатовский институт, Москва

nastya.soloveva1@yandex.ru

Цитохромы *c* являются большим классом гем-содержащих белков, которые широко распространены в живых организмах. Цитохромы *c* играют важнейшую роль в процессах электронного транспорта, связанных с разными видами энергетического метаболизма, а также в апоптозе у млекопитающих.

Одногемовый цитохром *c* (MW около 10 кДа) из галоалкалофильной бактерии *Thioalkalivibrio paradoxus* ARh1 рассматривается как потенциальный акцептор электронов для фермента тиоцианатдегидрогеназы, которая является первым ферментом энергетического метаболизма бактерий при росте на тиоцианате как единственном источнике энергии. Выделенный из периплазмы клеток *Tv. paradoxus* белок имеет характерные для цитохромов *c* максимумы поглощения при 409 и 417 нм (линии Соре окисленной и восстановленной форм, соответственно) и необычные двухгорбые пики поглощения, соответствующие линиям бета и альфа (520/528 нм и 546/556 нм, соответственно). В связи с чем цитохром был обозначен как C546/556. Наличие небольшого максимума при 695 нм характерно для гемов *c*, координированных остатками His и Met в проксимальном и дистальном положениях координационной сферы иона железа.

Для понимания структурных особенностей, обеспечивающих необычный спектр C546/556, были получены спектры ЭПР и пространственная структура цитохрома методом рентгеноструктурного анализа с разрешением 1.15 Å. Пространственная группа кристалла - ромбическая P2₁2₁2₁. В независимой части элементарной ячейки находятся две молекулы C546/556. Укладка C546/556 типична для одногемовых цитохромов *c* первого класса: пять α-спиралей формируют полость, в которой связывается гем *c*. Анализ структуры C546/556 с помощью программы PISA показал, что димер не формируется, и в независимой части элементарной ячейки присутствуют две не взаимодействующие молекулы C546/556 А и В, которые отличаются положением петли 46-50 между α₂ и α₃-спиральями, что приводит к различной доступности гемов растворителю. В молекуле А у пропионатного остатка гема наблюдаются два положения, что может объяснять наличие двух пиков в характеристических полосах спектра.

1.32. ОПТИМИЗАЦИЯ ЭКСПРЕССИИ, ВЫДЕЛЕНИЯ, ОЧИСТКИ И АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПЕРВОГО РЕКОМБИНАНТНОГО ТРЕХПЕТЕЛЬНОГО ТОКСИНА ГАДЮКИ *Vipera nikolskii* И ЕГО МУТАНТНЫХ ФОРМ

Сухов Д.А.^{1,2}, Кост В.Ю.², Скрупка М.И.², Енифанова Л.А.^{1,2},
Шелухина И.В.²

¹МИРЭА - Российский технологический университет, Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
sukhovdim@yandex.ru

Трехпетельные α -нейротоксины являются характерным компонентом ядов кобр, крайтов и морских змей и обеспечивают их основное нейротоксическое действие, однако до настоящего времени данные токсины не находили в ядах гадюк. Наша недавняя работа по транскрипционному анализу ядовитых желез *Vipera nikolskii* позволила обнаружить нуклеотидную последовательность, кодирующую новый трехпетельный токсин TFT-VN и впервые изучить его свойства (ДАН, 2018). Для трехпетельного токсина TFT-VN обладал уникальным фармакологическим профилем, предпочтительно ингибируя гетеромерные нейрональные $\alpha 3$ -содержащие nAХР. Нейрональные nAХР являются известными молекулярными мишенями при ряде нейродегенеративных и психических патологий, а также миастений и заболеваний воспалительной природы. Таким образом, разработка их новых ингибиторов может иметь терапевтическое значение.

В настоящей работе с целью повышения сродства к целевым молекулярным мишеням были получены мутантные формы данного трехпетельного токсина TFT[G43E]-VN и TFT[F12V, V13W]-VN. Для повышения эффективности биотехнологической наработки в штаммах бактерии *E. coli* белка TFT-VN, являющегося цистеин-богатым трёхпетельным токсином, был предложен новый метод его ренатурации при получении в виде нерастворимых белковых агрегатов. Однако при использовании данного метода выход целевого продукта был недостаточно высоким. Поэтому для повышения выхода рекомбинантного трехпетельного токсина с правильной структурой была создана генетически-кодируемая химерная конструкция, содержащая ген мутантного токсина TFT[G43E]-VN или TFT[F12V, V13W]-VN с присоединенным к нему тиоредоксином. Молекулярная масса, количество замкнутых дисульфидных связей и чистота белковых образцов были определены методами масс-спектрометрии и гель-электрофореза. Методом кальциевого имиджинга было показано, что мутантные токсины TFT[G43E]-VN и TFT[F12V, V13W]-VN не уступают по ингибирующей способности исходному рекомбинантному токсину TFT-VN. Таким образом, была проведена оптимизация гетерологической экспрессии функционально-активных трехпетельных α -нейротоксинов змей в штаммах бактерии *E. coli*.

1.33. СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ АМИЛОИДНЫХ АГРЕГАТОВ ТИТИНА СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ КРОЛИКА

Урюпина Т.А., Бобылёва Л.Г., Тимченко М.А., Некрасов П.В., Вихлянцева И.М., Бобылёв А.Г.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино
bobylev1982@gmail.com

Агрегация белков - процесс, который достаточно часто происходит в клетках организма; белок изменяет свою нативную конформацию и формирует агрегаты. Агрегацию, в свою очередь, можно разделить на амилоидную и неамилоидную. Амилоидную агрегацию ассоциируют с различными заболеваниями у человека и животных - амилоидозами. Существует также амилоидные агрегаты, необходимые для выполнения определённых функций - функциональные амилоиды. Главной отличительной особенностью амилоидных агрегатов от неамилоидных является наличие у первых четвертичной кросс- β структуры, благодаря которой амилоиды имеют относительно высокую прочность и устойчивость к протеолизу. Несмотря на то, что амилоидные агрегаты имеют общие свойства, на структурном уровне у них могут быть определённые различия. Эти структурные особенности являются в наименьшей степени изученными. В данной работе проведено исследование агрегации *in vitro* гигантского белка титина скелетных мышц кролика. Методом атомно-силовой микроскопии показано, что в растворе, содержащем 0,2 М КСl (рН 7.0), титин формирует крупные аморфные агрегаты. В растворе, содержащем 0,15 М Глицин-КОН (рН 7.0), титин формирует упорядоченные ветвящиеся нити (фибриллы) длиной более 50 мкм и высотой ~50-100 нм. Аморфные агрегаты титина не связывались с амилоидным красителем тиофлавином Т, в то время как упорядоченные фибриллы связывались с данным красителем, что приводило к увеличению в ~6 раз флуоресцентного сигнала относительно молекулярной формы белка. Методом рентгеновской дифракции у фибриллярных агрегатов титина был выявлен рефлекс 4,7 Å, который соответствует расстоянию между β -цепями у амилоидных фибрилл. Однако второго рефлекса (~10 Å), свойственного амилоидным агрегатам и который соответствует расстоянию между β -листами, выявлено не было. Несмотря на это, учитывая то, что данные агрегаты титина связываются с амилоидным красителем тиофлавином Т и имеют рефлекс 4,7 Å, их можно отнести к амилоидным или амилоидоподобным, имеющим, по-видимому, свою уникальную структуру. Результаты наших исследований расширяют представление об особенностях структуры амилоидных агрегатов и процесса амилоидной агрегации в широком его понимании. Эти знания, в свою очередь, необходимы для понимания особенностей формирования агрегатов как амилоидной, так и неамилоидной природы, а также для выяснения факторов, влияющих на процесс агрегации белков.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ (№ 22-24-00805).

1.34. РОЛЬ БЕЛКОВ, СВЯЗАННЫХ С ПАТОГЕНЕЗОМ, В ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ И ЖИЗНИ ЧЕЛОВЕКА

Финкина Е.И., Овчинникова Т.В.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
finkina@mail.ru

В ходе эволюционного развития растения выработали целый ряд механизмов, направленных на защиту от различных стрессовых факторов окружающей среды, в том числе от фитопатогенных микроорганизмов. Одним из механизмов защиты у растений является синтез белков, связанных с патогенезом (PR-белков). Семейство PR-белков включает в себя целый ряд классов белков, сильно отличающихся по своим свойствам, но играющих важную роль в адаптации и выживании растений. Наши исследования направлены на изучение представителей трех классов PR-белков, а именно гомологов Vet v 1, дефенсинов и липид-транспортирующих белков (LTP).

Представители данных классов PR-белков имеют различную локализацию, обладают широким спектром биологической активности и участвуют в самых разнообразных процессах в растениях. Многие из них ингибируют рост патогенных для человека микроорганизмов, обладают противоопухолевой и иммуномодулирующей активностью. Некоторые проявляют ферментативную активность, другие, наоборот, являются ингибиторами ферментов. Структуры гомологов Vet v 1 и LTP характеризуются наличием внутренней гидрофобной впадины, способной связывать гидрофобные молекулы различной природы. Поэтому белки данных классов обладают способностью связывать и переносить липидные лиганды. Помимо этого, некоторые PR-белки этих трех классов являются пыльцевыми и пищевыми аллергенами, вызывающими аллергические реакции различной степени тяжести. Повсеместное присутствие в растениях и значительное структурное сходство PR-белков внутри одного класса является причиной развития перекрёстных аллергических реакций.

Исследование растительных PR-белков представляется весьма актуальным не только в связи с необходимостью углубления нашего представления о месте этих белков в системе защиты растений, но и в силу их возможного применения в сельском хозяйстве для повышения стрессоустойчивости растений и медицине для создания прототипов новых противоопухолевых и антимикробных препаратов, а также современных диагностических аллержотестов и препаратов для проведения превентивной аллержен-специфичной иммунотерапии.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект № 22-25-00654).

1.35. ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПРЕССИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА РАСТИТЕЛЬНОГО ДЕФЕНСИНА NaD1

Шевченко О.В.¹, Фатеева С.И.², Овчинникова Т.В.², Финкина Е.И.²

¹МИРЭА - Российский технологический университет - Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
finkina@mail.ru

Растительные дефенсины составляют класс катионных антимикробных пептидов. Они эффективно подавляют рост патогенных грибов, характеризуются низкой токсичностью, а также высокой устойчивостью и рассматриваются в качестве прототипов новых противогрибковых препаратов. К таким дефенсином относится NaD1 из цветков табака *Nicotiana glauca*. Для исследования активности NaD1 в отношении резистентных к конвенциональным противогрибковым препаратам штаммов грибов, а также изучения его комбинированного действия с антимикотиками и эндогенными пептидами, имеющими другие мишени антимикробного действия, в данной работе был разработан биотехнологический способ получения дефенсина табака.

Рекомбинантный NaD1 получали путем гетерологической экспрессии в клетках *Escherichia coli*. Методом синтеза *de novo* с помощью ПЦР был получен фрагмент ДНК, кодирующий пептид. Полученный фрагмент методом Гибсона был клонирован в экспрессирующую плазмиду pET, кодирующую белок-носитель тиоредоксин А (TrxL) и октагистидиновую последовательность под контролем промотора T7. Компетентные клетки *E. coli* штамма BL21 трансформировали полученной плазмидой pET-His8-TrxL-NaD1. Трансформированные клетки выращивали на богатой питательной среде при 30°C, содержащей 20 мМ глюкозу и 100 мкг/мл ампициллина. Индукцию экспрессии осуществляли, добавляя 0,2 мМ изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозид, который используется в качестве аналога аллолактозы. Клетки лизировали с помощью ультразвука, и проводили очистку рекомбинантного NaD1 из растворимой фракции клеточного белка. Для этого использовали металлохелатную хроматографию, диализ, расщепление гибридного белка бромцианом по искусственно введенному остатку метионина, повторную металлохелатную хроматографию и обращенно-фазовую ВЭЖХ. Анализ чистоты полученного препарата проводили методами SDS-электрофореза в ПААГ. Идентичность рекомбинантного NaD1 природному дефенсину подтверждали с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии и КД-спектроскопии. Антимикробную активность пептида тестировали в отношении ряда чувствительных и резистентных к производным азола штаммов грибов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 22-25-00654.

1.36. АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ БЕЛКОВ MutS ИЗ БАКТЕРИЙ *Rhodobacter sphaeroides* И *Neisseria gonorrhoeae*

Якушкина Ю.В.¹, Монахова М.В.²

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

²НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
dddd80486@gmail.com

В живых организмах от бактерий до человека существует система репарации неканонических пар нуклеотидов ("мисматчей") и небольших петель, получившая название MMR (от англ. mismatch repair system). Белок MutS из MMR сканирует ДНК в поисках неканонических пар нуклеотидов и небольших инсерционно-делеционных петель.

Для понимания процессов, происходящих при репарации "мисматчей", требуются данные о структуре белка и функциях его доменов. Хорошо изучен MutS только из *E. coli*. У разных организмов строение и функции доменов MutS несколько отличаются между собой. Следовательно, требуется изучение MutS из различных организмов.

Объектами данной работы являются белки MutS из системы MMR бактерий *R. sphaeroides* и *N. gonorrhoeae*. MutS из *R. sphaeroides* впервые выделен в нашей научной группе, и его структура не была охарактеризована ранее.

Интерес к *R. sphaeroides* обусловлен вариабельностью её метаболического цикла и способностью выживать в различных условиях окружающей среды. Возбудитель гонореи, *N. gonorrhoeae*, использует различные способы адаптации к условиям окружающей среды для эффективного размножения в организме человека.

В данной работе проведён сравнительный анализ первичной структуры белков MutS из различных организмов с MutS из *R. sphaeroides* и *N. gonorrhoeae*. Установлена принадлежность MutS из *R. sphaeroides* и *N. gonorrhoeae* к группе MutS1, охарактеризованы функциональные мотивы, промоделированы пространственные структуры. Предсказана вторичная структура белка MutS из *R. sphaeroides* с помощью биоинформатических сервисов PSIPRED, SABLE, SSPro. Белок содержит $(48 \pm 8)\%$ α -спиралей, $(14 \pm 4)\%$ β -структур, $(38 \pm 9)\%$ неупорядоченных участков ($n = 3$, $P = 0.95$), что подтверждается данными кругового дихроизма при 15°C. Экспериментально показано, что денатурация белка MutS из *R. sphaeroides* начинается при 45°C. Методом кругового дихроизма с помощью программы CDPro алгоритмами CDSSTR, CONTINLL, SELCON определена вторичная структура MutS из *R. sphaeroides* в диапазоне температур 15-65°C, определены температурные диапазоны стабильной работы каждого алгоритма расчёта.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 21 14 00161).

СЕКЦИЯ 2

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ. МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

2.1. ИССЛЕДОВАНИЕ ОПУХОЛЕВОГО МАРКЕРА ГЛИОБЛАСТОМЫ С ПОМОЩЬЮ АПТАМЕРОВ К EGFR

Антипова О.М., Копылов А.М.

МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
antipovachem@gmail.com

Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) - основной опухолевый маркер глиобластомы (ГБ). К белку EGFR как напрямую, так и в составе клеток селективированы аптамеры. Аптамеры представляют собой олигонуклеотиды, высокоаффинно и специфично связывающие целевую мишень. Сравнение отобранных в разных экспериментах аптамеров по литературным данным затруднено. Целью настоящей работы была разработка алгоритма сравнения аптамеров с фокусом на связывании с клетками культур ГБ пациентов.

В работе использованы РНК- и ДНК-аптамеры: модифицированные 2'-F-пиримидил-РНК аптамеры ME07 [1], CL04 [2], ДНК-аптамеры U31 и U2[3], GR20 [4], и разработанный в нашей лаборатории ДНК-аптамер Gol1 (нуклеотидная последовательность 5'-GCCGGCATTTTGACGCC-GCCCCGGCTGCTTATGCTCCGGGCGCATATGGC-3).

Для исследуемых аптамеров с помощью алгоритмов расчета RNAfold предложены возможные вторичные структуры. Методом интерферометрии биослоев показана аффинность исследуемых аптамеров к рекомбинантному внеклеточному домену белка EGFR. Методом проточной цитофлуориметрии на линиях клеток с различной экспрессией EGFR показано специфическое узнавание аптамерами рецептора на клетке. Проведено исследование четырех первичных культур опухоли пациентов с ГБ с различными уровнями экспрессии EGFR. Аптамеры являются эффективным узнающим элементом для исследования представленности EGFR на клетках культур опухоли ГБ человека. Показано, что эффективность узнавания рецептора на клетке для РНК- и ДНК-аптамеров сопоставима. Статус EGFR на опухолевых клетках по-разному влияет на связывание различных аптамеров.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по соглашению №075-15-2020-809 (вн. номер 13.1902.21.0030).

Литература

1. Cheng S, Jacobson O, Zhu G et al. PET imaging of EGFR expression using an 18F-labeled RNA aptamer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2019;46(4):948-956.
2. Esposito CL, Passaro D, Longobardo I, et al. A neutralizing RNA aptamer against EGFR causes selective apoptotic cell death. *PLoS One*. 2011;6(9):e24071.
3. Wu X, Liang H, Tan Y, et al. Cell-SELEX aptamer for highly specific radionuclide molecular imaging of glioblastoma in vivo. *PLoS One*. 2014; 9(6):e90752.
4. Zavyalova E, Turashev A, Novoseltseva A, et al. Pyrene-Modified DNA Aptamers with High Affinity to Wild-Type EGFR and EGFRvIII. *Nucleic Acid Ther*. 2020; 30(3):175-187.

2.2. РАЗРАБОТКА ПРОГРАММНОЙ БИБЛИОТЕКИ ДЛЯ РАСЧЕТА ГЕОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ДНК НА ЯЗЫКЕ PYTHON

Васильев В.А., Армеев Г.А.

МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

v.vasilev@intbio.org

Геометрия двуцепочечной ДНК в А и Б формах была определена в 1953 году и на данный момент в банке данных белковых структур содержится более 6000 структур, содержащих 2 и более цепей ДНК. Известно, что геометрия ДНК зависит от ионного окружения, последовательности ДНК и взаимодействия с белками. Для того чтобы изучать закономерности изменения геометрии необходимы методы описания конформации ДНК. Существует несколько подходов к описанию локальной геометрии двуцепочечной ДНК. Один из наиболее распространенных подходов описывает ДНК в виде набора динуклеотидов. При таком подходе положение каждой следующей пары описывается 6 параметрами относительно предыдущей пары: 3 описывают пространственное смещение вдоль взаимно перпендикулярных осей и 3 - повороты вокруг этих осей.

Существующие программы для расчета геометрических параметров такие как DSSR(3DNA) и CURVES+ имеют ряд недостатков. Данные программы не содержат интерфейса для интеграции в другие программные библиотеки, их исходный код отсутствует в свободном доступе. Также эти программы не оптимизированы для обработки траекторий молекулярных динамики. В данной работе мы разработали аналог программ 3DNA find_pair и analyze на языке программирования python.

В нашей программной библиотеке расчёт параметров ДНК осуществляется в несколько этапов. Первый шаг - поиск нуклеотидов в pdb структуре и определение их типа (независимо от имени остатка и имен атомов). На втором шаге алгоритм определяет пары нуклеотидов. Последний этап - расчет внешних и внутренних параметров пар на основе определенных нуклеотидов и их пар. Работа данной программной библиотеки сравнивалась с работой 3DNA. Рассчитываемые значения параметров в среднем отличаются на 0.00274. Наша программная библиотека работает несколько медленнее 3DNA на отдельных структурах, но вычисления для траекторий производятся более чем в 10 раз быстрее.

Работа была поддержана Российским научным фондом, грант №21-74-00033.

2.3. ОЛИГОНУКЛЕОТИД-ПЕПТИДНЫЕ КОНЬЮГАТЫ ТРОМБИНОВОГО АПТАМЕРА С УЛУЧШЕННЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ

Даушева А.Ф., Варижук И.В., Тимофеев Э.Н.

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва
daushevalinal16@mail.ru

Одной из главных задач в области молекулярной медицины является разработка высокоспецифичных терапевтических препаратов и систем их адресной доставки. В этом отношении дизайн и исследование терапевтических нуклеиновых кислот является весьма перспективным направлением. Подтверждением этому может служить заметный успех в разработке РНК вакцин. Значительный прогресс достигнут также в области исследования терапевтических природных или модифицированных олигонуклеотидов. В частности, большой интерес представляют агенты на основе аптамеров. ДНК и РНК аптамеры - это относительно короткие олигонуклеотиды, обладающие, благодаря уникальной вторичной структуре, высокой аффинностью по отношению к выбранным молекулам-мишеням. Механизм действия аптамеров схож с механизмом действия антител. Важными преимуществами аптамеров перед антителами являются их небольшие размеры, доступность, отсутствие токсичности и возможность оптимизации их аффинных и физико-химических характеристик. Одним из подходов к усилению аффинности и ингибиторных характеристик аптамеров является расширение интерфейса узнавания аптамера за счет введения коротких пептидных фрагментов в выбранные положения олигонуклеотидной цепи.

В проведенном нами исследовании были изучены пептидные конъюгаты тромбинового аптамера 5'-GGTTGGTGGTGGTTGG. Трипептидные фрагменты были введены по пиримидиновому основанию тимидина в положении Т3. Результаты исследований антикоагулянтной активности, а также молекулярной динамики комплексов пептидных конъюгатов с тромбином позволили сформулировать принципы дизайна высокоактивных аптамерных антикоагулянтов.

2.4. ПРИМЕНЕНИЕ АПТАМЕРОВ К EGFR ДЛЯ ТАРГЕТНОЙ ДОСТАВКИ ДОКСОРУБИЦИНА В КЛЕТКИ ГЛИОБЛАСТОМЫ

Иванов Б.М., Антипова О.М., Копылов А.М.

МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
ivanovb661@yandex.ru

Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) - основной молекулярный маркер глиобластомы (ГБ), злокачественной опухоли головного мозга [1]. Доксорубин (ДОКС) применяют для химиотерапии, он связывается с двухцепочечной ДНК (дцДНК), блокирует топоизомеразу II и препятствует репарации ДНК, что приводит к гибели клеток. Действие ДОКСа не специфично, что приводит к высокой токсичности для здоровых клеток. Возможным решением этой проблемы является нацеливание на клетки ГБ с помощью таргетирующего агента. Аптамеры - олигонуклеотиды, которые с высокой эффективностью и специфичностью узнают мишень. В настоящей работе использовали ДНК аптамер к EGFR GR20 [2].

Методом клик-химии с использованием кето-группы ДОКСа получали ковалентный конъюгат с аптамером GR20. Также анализировали доставку ДОКСа посредством его интеркаляции в дцДНК: аптамер с дополнительной нуклеотидной последовательностью гибридизовали с комплементом, двуцепочечный "хвост" аптамера использовался для нековалентного связывания ДОКСа. Эффективность интеркаляции ДОКСа определяли с помощью флуоресцентного титрования. Цитотоксичность по отношению к клеткам фибробластов и к опухолевым клеткам ГБ пациентов оценивали с помощью клеточного анализатора exCelligence.

Показано, что доставка ДОКСа к опухолевым клеткам в составе нековалентного комплекса аптамера эффективна. Впервые проведено прямое сравнение действия ДОКСа, конъюгированного ковалентно с аптамером и интеркалированного в комплекс дцДНК.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по соглашению №075-15-2020-809 (вн. номер 13.1902.21.0030).

Литература

1. Yang K, Wu Z, Zhang H et al., Mol Cancer. 2022;21(1):39.
2. Zavyalova E, Turashev A, Novoseltseva A, et al., 2020;30(3):175-187.

2.5. ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИЕ МОДУЛЯТОРЫ СТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМНЫХ G-КВАДРУПЛЕКСОВ

Камзеева П.Н.¹, Лизунова С.А.², Цветков В.Б.², Скворцов Д.С.³, Иванова О.В.², Васильева Л.А.³, Чистов А.А.¹, Беляев Е.С.⁴, Хрулев А.А.¹, Ведехина Т.С.², Богомазова А.Н.², Лагарькова М.А.², Варижук А.М.², Аралов А.В.¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²ФНКЦ физико-химической медицины им. Ю.М. Лопухина ФМБА России, Москва

³МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

⁴Институт физической химии и электрохимии им. Фрумкина РАН, Москва
polinabast@yandex.ru

В теломерах и промоторах онкогенов содержатся богатые дезоксигуанозином фрагменты ДНК, способные формировать G-квадруплексы (G4), неканонические вторичные структуры нуклеиновых кислот, воздействие на которые может регулировать транскрипцию онкогенов и ингибировать элонгацию теломер [1]. Способность феноксазинов стабилизировать G4 в промоторе онкогена c-Kit была обнаружена в результате скрининга [2]. Нами были синтезированы производные феноксазина, содержащие остатки рибозы и дезоксирибозы и одну или две алкильные цепи с amino-, диметиламино- или гуанидиновыми группами, для установления влияния заместителей на эффективность стабилизации G4 [3]. Соединения, содержащие аминоалкильные заместители, продемонстрировали наиболее перспективные G4-стабилизирующие свойства в экспериментах по FRET-плавлению (ΔT , от 22°C). Были определены константы диссоциации комплексов G4ⁿ-лиганд/мишень, находящиеся в диапазоне 0,1-6,1 мкМ. Синтезированные производные эффективно ингибировали метаболическую активность раковых клеток (CC₅₀ от 0,3 мкМ), в меньшей степени оказывая влияние на условно нормальные легочные фибробласты, характеризующиеся медленным ростом. Локализация соединений в клеточном ядре была продемонстрирована с помощью флуоресцентной микроскопии. Экспериментальные данные свидетельствуют о перспективности феноксазиновых производных для дальнейшей оптимизации структуры с целью увеличения селективности.

Литература

1. Cimino-Reale G., et al. Emerging role of G-quadruplex DNA as target in anticancer therapy. *Curr. Pharm. Des.*, 2016, 22, p. 6612-6624.
2. McLuckie, K.I.E., et al. G-Quadruplex-Binding Benzo[a]phenoxazines Down-Regulate c-KIT Expression in Human Gastric Carcinoma Cells. *JACS*, 2011, 133(8), p. 2658-2663.
3. Lizunova S.A., et al. Anticancer activity of G4-targeting phenoxazine derivatives in vitro. *Biochimie*, 2022, 201, 43-54.

2.6. ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА ДИСТАНЦИОННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ МЕЖДУ Su(Hw)-ЗАВИСИМЫМИ КОМПЛЕКСАМИ

Молодина В.В., Мельникова Л.С., Костюченко М.В., Головин А.К.

Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

molodina_varvara@mail.ru

Su(Hw) представляет собой ДНК-связывающий белок дрозофилы, который взаимодействует с белками CP190 и Mod(mdg4)-67.2 в хорошо известном инсуляторном комплексе. Как показано ранее, сайты связывания Su(Hw) могут обеспечивать взаимодействия на большом расстоянии между энхансером и промотором гена *white* и поддерживать сверхдальние цис- или транс-взаимодействия между энхансером и промотором гена *yellow*. Механизмы дальних взаимодействий еще мало изучены. Есть основания считать, что димеризация белка Su(Hw) играет существенную роль во взаимодействиях Su(Hw)-зависимых комплексов, однако способность этого белка к димеризации пока не доказана. Мы проверили возможность прямого взаимодействия между гомологичными и гетерологичными доменами Su(Hw) с использованием двухгибридной дрожжевой системы (ДДС). Мы показали, что белок Su(Hw) способен образовывать гомодимеры. Гомодимеризация обеспечивается двумя районами белка SuHw: С-концевой областью, пересекающейся с районом, ответственным за Su(Hw)-зависимую инсуляцию, и N-концевым районом. В основном, гомодимеризация N-концевого района Su(Hw) обеспечивается доменом первого цинкового пальца и прилегающий к нему последовательностью, в то время как домен, отвечающий за взаимодействие с белком CP190, не нужен для димеризации. Чтобы подтвердить полученные в ДДС результаты, мы провели эксперименты по сосаждению белков на глутатион сефарозе (GST). Результаты этих экспериментов полностью подтвердили прямые взаимодействия между С-концевыми последовательностями белка Su(Hw), включающими лейциновую молнию и проксимальную область, которые необходимы для взаимодействия между белками Su(Hw) и Mod(mdg4)-67.2. Участие в димеризации первого цинкового пальца белка Su(Hw) и прилегающего к нему района так же подтвердилось. Таким образом, участки, взаимодействующие с белками CP190 и Mod(mdg4)-67.2, участвуют в гомодимеризации Su(Hw). Мы предполагаем, что белки CP190 и Mod(mdg4)-67.2 ответственны за дистанционные взаимодействия между Su(Hw)-зависимыми комплексами, а димеризация С- и N-концевых участков Su(Hw) стабилизирует такие взаимодействия.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 21-14-00205).

2.7. ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ ПЕПТИДОВ С ВЫСОКОЙ АФФИННОСТЬЮ К "КИСЛОТНОМУ ЛОСКУТУ" ГИСТОНОВОГО ДИМЕРА H2A/H2B НА РАЗВОРАЧИВАНИЕ НУКЛЕОСОМ КОМПЛЕКСОМ FACT

Олейников П.Д.¹, Сивкина А.Л.¹, Студитский В.М.^{1,2}, Феофанов А.В.^{1,3}, Шайтан А.К.^{1,4}

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Онкологический центр Фокс Чейз, Филадельфия, США

³Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

⁴НИУ "Высшая школа экономики", Москва, Россия

pasha.olejnikoff@yandex.ru

Гистоновые белки и ядерная ДНК, в виде хроматина, обеспечивают организацию жизненно-важных процессов в ядрах всех эукариотических клеток. Поверхность нуклеосом (комплексов гистоновых белков с ДНК) содержит область с отрицательным электростатическим потенциалом, известную как кислотный участок (лоскут), который функционирует как платформа для связывания различных белков, регулирующих функционирование хроматина. В связывании обычно участвуют короткие пептидные мотивы белков. Одним из таких пептидов, исследуемых в данной работе, является пептид белка LANA - латентно-ассоциированного вирусного антигена, обеспечивающего сохранение вирусной эписомы герпесвируса KSHV, ассоциированного с Саркомой Капоши. Вторым исследуемым пептидом стал фрагмент белка CENP-C, участвующего в сборке кинетохора в процессе митоза. Так называемый, CENP-C-motif необходим для узнавания центромеры посредством взаимодействия с кислотными лоскутами центромерных нуклеосом.

В ходе экспериментов с использованием spFRET-микроскопии (изучение мононуклеосом на основе Ферстеровского резонансного переноса энергии) было выявлено стабилизирующее действие LANA-пептида при взаимодействии с нуклеосомами, а также характерное взаимодействие CENP-C с нуклеосомами, которое может объясняться частичным разворотом супервитков нуклеосомной ДНК под влиянием пептида. Кроме того, было исследовано в присутствии изучаемых пептидов взаимодействие нуклеосом с АТФ-независимым ремодулирующим комплексом FACT (Facilitates Chromatin Transcription). FACT способствует как разборке, так и повторной сборке нуклеосом, обеспечивает доступ к нуклеосомной ДНК регуляторных белков. Нами показано, что связывание исследуемых пептидов снижает эффективность разворачивания нуклеосом комплексом FACT.

Полученные результаты расширяют представления о механизмах взаимодействия белков хроматина с кислотным лоскутом и о потенциальном применении нуклеосом-связывающих пептидов для направленной регуляции функционирования генома.

Работа выполнена при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 075-15-2021-1354.

2.8. БЕЛОК Rad51 КАК СРЕДСТВО ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ РЕПАРАЦИИ РАЗРЫВОВ ДНК ПО МЕХАНИЗМУ ГОМОЛОГИЧНОЙ РЕКОМБИНАЦИИ

Рукина А.М.¹, Шепелев М.В.²

¹Первый МГМУ им И.М. Сеченова, Москва

²Институт биологии гена РАН, Москва

alexrukinaaa@gmail.com

Репарация двуцепочечных разрывов ДНК (ДРД) по механизму гомологичной рекомбинации (ГР) лежит в основе направленной модификации геномов с помощью системы CRISPR/Cas9, но эффективность ГР существенно ниже по сравнению с репарацией ДРД по механизму негомологичного соединения концов (НГСК). Белок Rad51, представляет собой АТФазу, и является ключевым участником процесса ГР, формируя нуклеофиламенты, необходимые для поиска гомологичных последовательностей и обмена цепями ДНК при рекомбинации. Белок BRCA2 рекрутирует Rad51 к месту ДРД и стимулирует его связывание с одноцепочечной ДНК, формируя нуклеофиламенты. Было показано, что добавление на С-конец нуклеазы Cas9 пептида Vrex27 из белка BRCA2 длиной 36 аминокислот, связывающего Rad51, повышает эффективность репарации ДРД по механизму ГР и снижает уровень НГСК. Мы предположили, что модификация Cas9 с помощью Vrex27-пептида (Cas9-Vrex27) в комплексе с экспрессией Rad51 приведет к дальнейшему повышению эффективности ГР.

Количественную оценку репарации ДРД по механизмам НГСК и ГР проводили, используя клеточную линию НЕК293, несущую в геноме репортерную конструкцию Traffic Light Reporter (TLR5). Клетки трансфицировали плазмидами для коэкспрессии Cas9, гидовой РНК и белков Vfp (blue fluorescent protein) или Vfp-Rad51 и оценивали репарацию ДРД с помощью проточной цитометрии. Было установлено, что при экспрессии Vfp-Rad51, но не Vfp, повышается уровень ГР и снижается уровень НГСК, что выражается как повышение отношения ГР/НГСК. При экспрессии Cas9-Vrex27, также было выявлено повышение соотношения ГР/НГСК по сравнению с Cas9. Однако уровень экспрессии Cas9-Vrex27 в клетках оказался существенно ниже по сравнению с Cas9, что затрудняет оценку эффекта от коэкспрессии Cas9-Vrex27 и Rad51 по сравнению с Cas9 и Rad51. Таким образом, нами было показано, что воздействуя на пути репарации ДРД с помощью экспрессии Rad51 или модификации Cas9 пептидом из белка BRCA2 можно изменить соотношение механизмов репарации в пользу ГР. Далее, для оценки специфичности эффекта от экспрессии Rad51 будет использован белок Rad51 K57R, K70R с мутациями сайтов сумоилирования, которое необходимо для связывания Rad51 с BRCA2 и эффективной репарации по механизму ГР, а также малые молекулы RS-1 и RI-1, стабилизирующие и ингибирующее Rad51-нуклеофиламенты, соответственно.

2.9. ИЗУЧЕНИЕ РАЗВОРАЧИВАНИЯ НУКЛЕОСОМЫ БЕЛКОВЫМ КОМПЛЕКСОМ FАСТ

Сивкина А.Л.^{1}, Волох О.И.^{1*}, Карлова М.Г.^{1*}, Моисеенко А.В.^{1,2},
Соколова О.С.^{1,3}, Студитский В.М.^{1,4}*

* равный вклад соавторов

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Институт химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, Москва, Россия

³МГУ-ППИ, Шеньчжень, КНР

⁴Раковый центр Фокс Чейз, Филадельфия, США

Anastasiia.sivkina@gmail.com

Комплекс FАСТ является АТФ-независимым шапероном гистонов, способным обратимо разворачивать нуклеосомы. Это высококонсервативный комплекс, участвующий в транскрипции, репликации и репарации ДНК. На сегодняшний день наиболее исследованы комплексы FАСТ человека и дрожжей - human FАСТ (hFАСТ) и yeast FАСТ (yFАСТ), соответственно. FАСТ взаимодействует со всеми компонентами нуклеосомы, включая нуклеосомную ДНК, тетрамер гистонов H3/H4 и димеры гистонов H2A/H2B. FАСТ вызывает реорганизацию нуклеосом, увеличивая доступность нуклеосомной ДНК к различным реагентам и белкам. Ранее было показано, что данный фактор раскручивает нуклеосомную ДНК по механизму "все-или-ничего", обратимо, без гидролиза АТФ, при этом удерживая ДНК и гистоны в одном комплексе. Для разворачивания нуклеосомы необходимо присутствие всех трех субъединиц дрожжевого комплекса yFАСТ: димера Spt16/Pob3 и белка Nhp6. Человеческий комплекс hFАСТ состоит из гетеродимера Spt16/SSRP1 и является важной мишенью для противораковых препаратов класса - кураксинов.

В данной работе механизмы разворачивания нуклеосом комплексом yFАСТ и hFАСТ были изучены с использованием ряда различных комплементарных биофизических и биохимических подходов, позволяющих получить информацию о различных аспектах работы этого комплекса. Было продемонстрировано, что комплексы yFАСТ и hFАСТ способны разворачивать нуклеосому в линейную структуру. На основании полученных данных предложены модели Nhp6-зависимого и кураксин-зависимого разворачивания нуклеосом белковым комплексом FАСТ.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (№21-74-20018). Электронная микроскопия выполнена на УНУ "3D-ЭМС" МГУ имени М.В. Ломоносова.

2.10. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИОННОЙ АКТИВНОСТИ ВЫСОКОКОНСЕРВАТИВНОГО ГЕНА *Ras85D*

Сивопляс Е.А.^{1,2}, Белкина Е.Г.¹, Лазебный О.Е.¹, Куликов А.М.¹

¹Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

²Московский педагогический государственный университет, Москва
sivoplyas-ekater@mail.ru

Высококонтсервативный ген дрозофил *Ras85D* имеет смешанный тип промотора - широкий с пиком, сочетающий свойства промоторов генов "домашнего хозяйства" (housekeeping genes) с постоянной экспрессией, и генов "роскоши" (luxury/nonconstitutive genes). Синтез данного белка осуществляется в течение всей жизни у эукариот, а активность экспрессии меняется в различных тканях и на разных стадиях онтогенеза. У человека гомологи этого гена - HRAS, KRAS и NRAS, являются протоонкогенами, онкогенные мутации которых представлены в различных типах опухолей. У *D.melanogaster* многие мутации в кодирующей последовательности и области промотора приводят к летальным мутациям и выраженным морфологическим нарушениям.

Тем не менее, у разных видов дрозофил для ортологов гена *Ras85D* показаны различия области промотора и межгенного района вплоть до предшествующего гена. Эволюционные перестройки и изменения последовательности при сохранении гомологии расположенного выше по цепи гена связаны с встраиванием мобильных генетических элементов, в частности ретротранспозонов и ДНК-транспозонов. У всех видов показано наличие дополнительных точек старта транскрипции, расположенных как правило выше основной. Конститутивные регуляторные последовательности гена *Ras85D* представлены в выявленных эволюционно консервативных участках и обогащены сайтами связывания транскрипционных факторов, контролирующими различные этапы онтогенеза дрозофил.

Кроме этого в области 3'-UTR гена *Ras85D* присутствуют консервативные последовательности, отвечающие за связывание микроРНК. Применение генетических конструкций с GFP в качестве гена-мишени, и несущих выявленные сайты связывания микроРНК в области 3'-UTR гена-мишени, подтвердило, что экспрессионная активность гена *Ras85D* различается в зависимости от стадии развития и регулируется с помощью микроРНК.

Данная работа поддержана грантом РФФИ № 16-34-00840 мол_а.

2.11. ГОРОХ (*Pisum sativum* L.) В ЭПОХУ ГЕНОМОВ

Соломенникова Ю.Н.

Университет ИТМО, Санкт-Петербург
ylia.solomennikowa@yandex.ru

Бобовые, в частности горох посевной (*Pisum sativum* L.) - ценный источник питательных веществ для потребления человеком и корма для скота. Некоторые дикорастущие представители рода *Pisum*, например, *P. sativum* subsp. *elatius*, устойчивы к нематоду, заразихе, мучнистой росе, фузариозам, аскохитозу и белой гнили. Хотя использование диких сородичей в качестве источников новых аллелей сопряжено с определенными трудностями, обусловленными размером и повторяющимся характером генома гороха, успехи в генетических исследованиях растений расширили наше понимание сложных признаков и привели к открытию новых генов.

Молекулярная селекция растений была названа основой улучшения сельскохозяйственных культур 21-го века и объединяет традиционные методы селекции растений, молекулярные маркеры, геномные исследования и биотехнологии. Идея создания генетических библиотек для ускорения селекции растений подкрепляется развитием генетических инструментов в постгеномную эру. Так, данные о геноме гороха в настоящее время доступны в Информационном центре геномных исследований URGI.

Хотя размер и повторяющаяся структура генома гороха до сих пор ограничивали его секвенирование, уже существуют всеобъемлющие геномные ресурсы. Они включают библиотеки ВАС, наборы молекулярных маркеров, наборы данных транскриптома и протеома, а также мутантные популяции для обратной генетики. Информация о геномах этих культур и их диких сородичей также послужила основой для таких исследований, как сравнительная геномика, функциональная геномика, картирование ассоциаций и открытие генов. Сочетание подхода, основанного на использовании генов-кандидатов и коллинеарности, успешно привело к идентификации генов, лежащих в основе агрономически важных признаков, включая устойчивость к вирусам растений.

Доступность высокопроизводительных "омических" технологий открывает большие перспективы для разработки новых, высокоточных инструментов для улучшения генотипов гороха. Нынешняя доступность технологий и геномной информации должна оказать значительное положительное влияние на качество, разнообразие и скорость селекционных программ.

2.12. СИНТЕЗ БИОСУРФАКТАНТА СУРФАКТИНА В КЛЕТКАХ

B. subtilis: ВЛИЯНИЕ 6S-1 РНК

Трефилов В.С.¹, Елкина Д.А.², Буренина О.Ю.³, Хартманн Р.К.⁴, Кубарева Е.А.², Зверева М.Э.²

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³Сколковский институт науки и технологий (Сколтех), Москва, Россия

⁴Institut für Pharmazeutische Chemie, Philipps-Universität Marburg, Марбург, Германия

trefilov.vadik@gmail.com

Сурфактин - это циклический липопептид, состоящий из гептапептидного циклического участка и остатка жирной кислоты (C₁₄-C₁₅). Благодаря очень высокому значению поверхностной активности, сурфактин может быть использован в косметической и пищевой промышленности, нефтепереработке, дизайне новых поколений антибиотиков и противораковых препаратов. Из-за сложности структуры химический синтез сурфактина практически невозможен, единственным путем его производства является микробиологический синтез. Однако стоимость получаемого сурфактина все равно слишком велика. Разработка штаммов-суперпродуцентов сурфактина позволит решить эту проблему и повысить доступность сурфактина для различных сфер его применения.

В процессе работы мы исследовали влияние нокаута гена 6S-1 РНК, являющейся глобальным регулятором транскрипции генов за счет своей сходной с транскрипционным пузырьком вторичной структуры, на биосинтез сурфактина клетками *B. subtilis* двух штаммов (лабораторного РY79 и выделенного из почвы дикого NCIB 3610). Показано, что для штамма РY79 в отсутствие 6S-1 РНК наблюдается повышение уровня мРНК всех генов оперона *srfA*, кодирующего сурфактин-синтетазу, в поздней стационарной фазе роста. Для нокаутного по 6S-1 РНК штамма NCIB 3610 наблюдается повышение активности промотора оперона *srfA* в переходной фазе роста. Для оценки эффективности выделения клетками сурфактина методом крованого агара (blood agar method) были определены зоны гемолитического эффекта клеточных колоний тех же штаммов *B. subtilis*. Показано, что клетки штамма NCIB 3610 с нокаутом гена 6S-1 РНК производят на 34% меньше сурфактина, чем клетки дикого типа; для штамма РY79 различие имеет ту же тенденцию и составляет 17%.

Таким образом несмотря на то, что делеция гена 6S-1 РНК в бактериях *B. subtilis* РY79 способствует повышению эффективности транскрипции оперона *srfA*, непосредственное производство сурфактина в бактериях *B. subtilis* РY79 и NCIB 3610 в отсутствие 6S-1 РНК понижается.

Работа выполнена при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 075-15-2021-1396.

2.13. ИЗУЧЕНИЕ ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫХ МОДИФИКАЦИЙ ГИСТОНОВ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Шарьяфетдинова А.С., Армеев Г.А., Князева А.С.

МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

a.sharyafetdinova@intbio.org

Генетическая информация эукариот закодирована в молекуле ДНК, которая упакована в элементарные единицы - нуклеосомы. Нуклеосомы, помимо самой ДНК, состоят из четырех типов гистонов (H2A, H2B, H3, H4), каждый из которых представлен дважды и имеет концевые структурно неупорядоченные последовательности, именуемые гистоновыми хвостами. Гистоны с их хвостами играют ключевую роль в поддержании стабильности нуклеосомы, экспрессии генов, привлечении транскрипционных факторов и других процессах. Разнообразие функциональной активности увеличивается за счет наличия посттрансляционных модификаций (ПТМ), которые опосредуют множество путей регуляции хроматина, например, это одна из самых распространенных причин "откручиваний" гистоновых хвостов от нуклеосомы (что предоставляет возможность другим белкам взаимодействовать с ДНК и гистонами). Для изучения нуклеосом с ПТМ применяют методы молекулярного моделирования, так как с его помощью можно наблюдать процесс в динамике на временах порядка фемто-микросекунд с атомистической точностью, из чего можно извлечь ценную для анализа информацию. На данный момент параметризация ПТМ в силовых полях - технически трудно реализуемая задача, поэтому для исследования влияния ПТМ на динамику нуклеосом мы использовали два подхода: 1) оценка изменения энергии нуклеосомы без молекулярной динамики (МД) - с использованием программы FoldX; 2) расчеты МД систем с мимиками заряд-экранирующих ПТМ (заменами положительно заряженных аминокислотных остатков на аланин). В первом подходе мы перебрали все возможные положения фосфорилирований в нуклеосоме, что позволило выделить ПТМ, увеличивающие и уменьшающие стабильность нуклеосомы, что может быть в дальнейшем использовано для экспериментальных исследований и выявления новых сайтов ПТМ. С использованием второго подхода мы показали, что мутирование с аланином, а также единичные мутации вблизи ДНК (H3-latch) уменьшает силу взаимодействия хвостов с ДНК, что приводит к их "откручиванию".

Работа поддержана грантом РФФ No 18-74-10006-П (<https://rscf.ru/en/project/18-74-10006/>). Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова.

СЕКЦИЯ 3

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ, УГЛЕВОДОВ И НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ

3.1. РИЦИН ВЗАИМОДЕЙСТВУЕТ С β Gal-СОДЕРЖАЩИМИ ЭПИТОПАМИ В СОСТАВЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ

Ахманов Е.А.¹, Патова О.А.², Головченко В.В.², Нокель А.Ю.^{1,4}, Микишина П.В.³, Бовин Н.В.¹, Полякова С.М.¹, Горшкова Т.А.³, Шилова Н.В.^{1,4}

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²ИФ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар

³ФИЦ КазНЦ РАН, Казань

⁴НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии имени В.И. Кулакова, Москва

tard2.0@mail.ru

Рицин (RCA) - растительный лектин - широко используется в качестве гликобиологического инструмента при сравнительной характеристике гликозилирования белков, клеток и тканей, однако, его реальные мишени в растении до сих пор неизвестны. С помощью полисахаридного эррея в формате гликочипа, содержащего 113 растительных полисахаридов (ПС), выделенных из различных растений мы выяснили, что рицин способен взаимодействовать с 23 из 113 ПС, в том числе с ксилоглюканом и галактоманнаном, в составе которых преобладают глюкоза и манноза, соответственно (>60%). Во всех позитивных полисахаридах были также идентифицированы и остатки галактозы (от 3 до 94 вес%). Для того, чтобы выяснить, является ли Gal в боковых цепях тем остатком, с которым связывается рицин, мы использовали планшетный твердофазный анализ, с сенсбилизацией топ-10 полисахаридами, выявленными с помощью гликочипа. Оказалось, что обработка ПС β -галактозидазой из *Aspergillus niger*, способной отщеплять терминальные остатки галактозы, не всегда приводит к отмене их взаимодействия с рицином, что свидетельствует о том, что этот лектин способен связываться с β Gal-содержащими эпитопами. Конструирование специализированного эррея, лигандами которого будут охарактеризованные фрагменты обнаруженных для рицина полисахаридов, а также ингибиторный анализ и другие методы позволят нам выяснить функциональные мишени этого лектина.

Работа поддержана грантом РФФ № 20-63-47110.

3.2. КЛАСТЕРИЗАЦИЯ ЛИПИДОВ В МОДЕЛЬНЫХ МЕМБРАНАХ ДОФХ/ДОФС (ПО ДАННЫМ ВЫЧИСЛИТЕЛЬНОГО ЭКСПЕРИМЕНТА)

Веретененко И.И.^{1,2}, Трофимов Ю.А.^{1,3}, Ефремов Р.Г.^{1,2,4}

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

³НИЯУ "МИФИ", Москва

⁴НИУ "Высшая школа экономики", Москва

veretenenko.ii@phystech.edu

Свойства клеточных мембран во многом обусловлены неоднородным распределением фосфолипидов в плоскости бислоя (т.н. "латеральной гетерогенностью"), в том числе неоднородностями нанометрового масштаба (т.н. "нанодоменами"). Экспериментальное исследование таких неоднородностей затруднено вследствие ограниченной разрешающей способности современных инструментальных методов, поэтому их часто изучают с использованием компьютерного моделирования.

В данной работе методами молекулярной динамики исследовали нанодомены в липидных бислоях с различным соотношением цвиттерионного диолеоилфосфатидилхолина (ДОФХ) и отрицательно заряженного диолеоилфосфатидилсерина (ДОФС). В работе предложен метод характеристики латеральной гетерогенности и выявления липидных кластеров. Алгоритм кластеризации включает в себя следующие шаги:

1. Выявление "кластеризованных" липидов, характеризующихся повышенной локальной плотностью вокруг центра масс их полярных головок.

2. Объединение близко расположенных кластеризованных липидов в нанодомены в координатах (t, X, Y) , где t - время, (X, Y) - плоскость бислоя.

Характер выявленных липидных кластеров различается в бислоях ДОФХ и ДОФС. В ДОФХ липиды объединяются в единый кластер, охватывающий 50-70% кластеризованных липидов, характеризующийся малым временем жизни $\tau \approx 10-20$ нс и динамическим обменом липидов (в кластеризованном состоянии $\tau \approx 0,7$ нс). В ДОФС липиды объединяются в кластеры размером 5-40 липидов (3-14% кластеризованных липидов в одном кластере), характеризующиеся большим временем жизни $\tau \geq 40$ нс и менее интенсивным обменом липидов (в кластеризованном состоянии $\tau \approx 7$ нс). Большая структурная стабильность липидных кластеров в ДОФС по сравнению с ДОФХ объясняется наличием дополнительных долгоживущих взаимодействий между кластеризованными липидами: водородными связями липид-липид ($\tau \approx 0,3$ нс) и т.н. ионными мостиками (связи липид-ион-липид, $\tau \approx 1$ нс).

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 18-14-00375).

3.3. НОВЫЙ ПРИРОДНЫЙ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЙ МОДУЛЯТОР ИОННОГО КАНАЛА TRPV3

Калиновский А.П., Андреев Я.А., Королькова Ю.В.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
kalinovskii.ap@gmail.com

Ионный канал TRPV3 относится к подтипу термочувствительных ваниллоидных TRP-каналов. Он является компонентом кальциевой сигнализации клетки, управляющей различными процессами, в т.ч. пролиферацией, миграцией и гибелью. Данный канал широко представлен в эпителиальных и нервных клетках, где он связан с восприятием безвредного диапазона температур, регенерацией тканей, а также воспалительной болью и зудом. Фармакологическое модулирование работы данного канала является стратегией исследования его физиологических функций и коррекции связанных патологических процессов.

В результате трехстадийной хроматографической очистки из экстракта лекарственного растения андрографиса метельчатого нами был выделен индивидуальный компонент, проявлявший антагонизм по отношению к TRPV3 в тестах флуоресцентного кальциевого имиджинга. По данным структурных исследований соединение относится к дитерпеноидам лабданового ряда. Для данного соединения подобная активность обнаружена впервые. Параметры взаимодействия с каналом были изучены методом пэтч-кламп на клеточной линии СНО, стабильно экспрессирующей человеческий ортолог TRPV3. Соединение необратимо подавляло ионные токи, вызванные химическим агонистом 2-аминоэтоксидифенил боратом (2-APB, 2-aminoethoxydiphenyl borate), с максимальной эффективностью 50% и концентрацией полумаксимального ингибирования $0,69 \pm 0,22 \mu\text{M}$ для выходящих токов и $0,5 \pm 0,3 \mu\text{M}$ для входящих токов. Эффект не проявлял зависимости от мембранного потенциала и не сопровождался сдвигом реверсивного потенциала от нулевого значения. В присутствии ингибитора концентрация полумаксимальной активации для 2-APB оставалась неизменной, однако максимальный эффект активации снижался приблизительно наполовину. Ионные токи, вызванные другим химическим стимулом, тимолом, также ингибировались исследуемым соединением, что исключает конкуренцию с сайтом связывания 2-APB. Полученные данные свидетельствуют о возможном фармакологическом потенциале данного соединения, уточнение которого будет проведено в тестах на клеточных линиях и животных моделях.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФ № 22-25-00136.

3.4. СИНТЕЗ АДРЕСНЫХ ЛИПОКОНЬЮГАТОВ, СОДЕРЖАЩИХ RGD-ПЕПТИД

Липенский В.М., Маслов М.А.

МИРЭА - Российский технологический университет, Москва

lipenskiy.v.m@gmail.com

Количество исследований в области генной терапии возрастает из года в год. Одной из проблем данного метода лечения рака является поиск стабильного и безопасного для организма вектора доставки (ВД) нуклеиновых кислот (НК). Разработаны различные ВД, которые по-разному могут опосредовать эффективность попадания НК в клетку-мишень. Различают вирусные и невирусные ВД. Среди невирусных векторов стоит выделить катионные липосомы (КЛ). В состав КЛ входит катионный липид, который участвует в компактизации НК и формировании липоплексов. Включение в состав КЛ липида-хелпера улучшает высвобождение НК при попадании внутрь клетки. Введение ПЭГ-содержащего липоконъюгата способствует увеличению времени циркуляции липоплексов, а также защите от фагоцитов. Модификация поверхности КЛ пептид-содержащим липоконъюгатом обеспечивает адресную доставку НК к клеткам-мишеням. В качестве адресных лигандов могут выступать пептиды с последовательностью RGD, которые связываются с интегринами $\alpha_v\beta_3$, экспрессированными на клетках эндотелия опухоли.

Целью данной работы является разработка метода синтеза предшественников пептид-содержащих липоконъюгатов со скватратным и малеимидным линкерами и дальнейшее присоединение RGD-содержащих пептидов.

На первом этапе работы синтезирован диалкилзамещенный глицерин, способный встраиваться в бислои КЛ. На втором этапе работы были синтезированы ПЭГ-содержащие диглицериды, по терминальной аминогруппе которых были введены скватратный или малеимидный линкер, а затем RGD-пептиды.

Структура полученных соединений была подтверждена данными спектроскопии ЯМР ^1H , ^{13}C и масс-спектрометрии.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (проект № 0706-2020-0019).

3.5. ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИАКРИЛАМИДНЫХ ПРОБ ДЛЯ КАРТИРОВАНИЯ ГЛИКОКАЛИКСА КЛЕТКИ

Пех Д.С., Тузиков А.Б., Савченко М.С., Рыжов И.М., Рапопорт Е.М., Бовин Н.В.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
danilapehta5ok@mail.ru

Гликокаликс - слой на поверхности мембраны, представляющий собой организованный комплекс мембранно-связанных и несвязанных молекул, в первую очередь, гликопротеинов, протеогликанов и гликолипидов. До сих пор мало, что известно о проникновении в гликокаликс внеклеточных везикул, которые переносят биомолекулы и рассматриваются как перспективные средства для доставки лекарственных средств к клеткам-адресатам. Согласно имеющимся данным, гликокаликс состоит из кластеров, расстояние между которыми составляет не более 20 нм. Микровезикулы имеют существенно больший размер (средний размер 200 нм), поэтому необходимо изучать механизм трафика МВ - как через гликокаликс материнской клетки, так и клетки-адресата. Для изучения динамики проникновения объектов различного размера в гликокаликс в Лаборатории углеводов были синтезированы и опробованы флуоресцентные полиакриламидные (РАА) пробы, имеющие возможность ковалентно метить поверхность пор и каналов гликокаликса. При синтезе проб были использованы два принципа ковалентного связывания. Пробы первого типа содержали активированные (N-гидроксисукцинимидом (NHS) или *p*-нитрофенолом (PNP)) карбоксильные группы, которые способны ацилировать аминокгруппы белков; оказалось, что такие пробы практически не связываются с гликокаликсом эндотелиальных клеток (EA.hy 926) вне зависимости от их размера. Пробы второго типа содержали остатки фенилборной кислоты (ФБ), которая обратимо связывается с 1,2- или 1,3-диолами в составе гликанов; они хорошо связывались с гликокаликсом клеток EA.hy 926. Методом конфокальной микроскопии исследовалась кинетика проникновения ФБ-проб (20 кДа) в гликокаликс. При толщине слоя $1,2 \pm 0,3$ мкм через 5 мин проба выявлялась в верхней части гликокаликса на глубине $0,3 \pm 0,1$ мкм, а через 40 мин обнаруживалась внизу его слоя, на глубине $1,1 \pm 0,2$ мкм. Полученные результаты в дальнейшем будут использованы для оценки скорости и траектории прохождения микровезикул через гликокаликс.

Работа поддержана грантами РФФИ № 22-23-00756 и № 22-24-00672.

3.6. ИССЛЕДОВАНИЕ ГЛИКОПРОФИЛЯ МИКРОВЕЗИКУЛ: СРАВНЕНИЕ С ГЛИКОПРОФИЛЕМ ИСХОДНЫХ КЛЕТОК

Сливка Е.В., Шилова Н.В., Образцова Е.А., Капусткина Д.С., Бовин Н.В., Рапопорт Е.М.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
slivkaekaterina6@gmail.com

Микровезикулы (МВ) вовлечены в коммуникацию между клетками. Они доставляют биомолекулы не только к соседним клеткам, но и по всему организму. В современной медицине МВ рассматриваются как перспективное средство для направленной доставки терапевтических молекул. Однако, фундаментальные аспекты транспорта МВ исследованы недостаточно, в частности, мало информации, с какими лектинами связываются МВ в составе гликокаликса адресной клетки. Целью данной работы было провести сравнительный анализ гликанового состава EA.hy 926 (эндотелиальные клетки) и полученных из них МВ. МВ получены из супернатанта клеток EA.hy 926, их размер, по данным электронной микроскопии, составил в среднем 200 нм. Для исследования гликопрофиля, МВ иммобилизовали на стеклянные полилизин-покрытые слайды, после чего инкубировали их с растительными лектинами различной специфичности. Показано, что в МВ представлены Man- и олиголактозамин ((LN)_n)-содержащие гликаны, и отсутствовали 3'-, 6'-сиалилированные и Fucα-содержащие гликаны. Для того чтобы понять, насколько избирательно гликаны попадают в МВ, был исследован гликановый паттерн клеток с использованием того же набора растительных лектинов. Также, как и в МВ, в клетках EA.hy 926 присутствуют (LN)_n- и Man-содержащие гликаны. В отличие от МВ, на клетках наблюдалась экспрессия 3'- и 6'-сиалилированных и Fucα-содержащих гликанов. Полученные данные показали: 1) гликопрофили МВ и материнских клеток совпадают частично, что свидетельствует об избирательности попадания (или непопадания) гликанов в МВ; 2) галектины, проявляющие высокое сродство к (LN)_n, предположительно вовлечены в узнавание МВ адресной клеткой.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, грант № 22-24-00672.

3.7. РАЗРАБОТКА СИНТЕТИЧЕСКОГО ПОДХОДА К НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМ КОМПОНЕНТАМ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ СИСТЕМЫ ЭНХИТРЕИД *Henlea sp.*

Хохлова А.Н.¹, Вавилов М.В.¹, Царькова А.С.¹, Петушков В.Н.², Родионова Н.С.²

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²Институт физики СО РАН, ФИЦ "Красноярский научный центр СО РАН", Красноярск
anastasiia.khokhlova@chemistry.msu.ru

Биолюминесценция - явление излучения света живыми организмами, в основе которого лежит биохимическая реакция окисления небольшой органической молекулы - люциферина, катализируемая специфичным ферментом - люциферазой. Предметом исследования в данной работе является малоизученная биолюминесцентная система почвенных червей *Henlea sp.* семейства Eпchytraeidae. Известно, что она включает в себя, помимо субстрата и фермента, ионы кальция [1], кислород и ряд низкомолекулярных соединений [2]. Среди прочих в бесклеточном экстракте биомассы *Henlea sp.* были обнаружены неактивные структурные аналоги люциферина, имеющие максимум поглощения 300 нм и названные нами Peak300a-c [3]. Они могут быть либо продуктами ферментативного (или неспецифического) окисления люциферина, либо его метаболическими предшественниками. Установление структур неактивных аналогов является незаменимым инструментом в структурном исследовании самого люциферина, ввиду его низкой стабильности и малого содержания в биомассе червей.

Однозначно установить структуры этих соединений, только исходя из данных ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения, оказалось невозможно. Известно, что Peak300b и Peak300c содержат фрагмент 2-карбокситриптофана и фрагмент треоновой или эритроновой кислоты. Нами был предложен ряд соединений, подходящих под полученные данные, и синтезирован аналог Peak300c. Сравнение данных ЯМР-спектроскопии полученного соединения с природным выявило несовпадение химсдвигов. Вероятно, предложенная структура отличается от реальной положением, по которому присоединяется кислотный фрагмент. Детальный анализ спектров ЯМР показал, что наиболее вероятно структуре Peak300b-c соответствует сочленение по γ -положению треоновой кислоты с триптофановым ядром.

Настоящая работа посвящена разработке подхода к синтезу этих низкомолекулярных компонентов. В качестве исходных соединений были взяты триптофан и диметиловый эфир L-винной кислоты. Функционализация триптофана проводилась с использованием реакции Пикте-Шпенглера с последующим окислением продукта. Для присоединения треоновой кислоты по γ -положению требовалось защитить α - и β -гидроксилы, после чего провести восстановление сложноэфирной группы до гидроксильной. Введение сульфогруппы является предметом дальнейшего исследования. Полученные на данном этапе результаты станут основой для разработки метода синтеза неактивных аналогов люциферина, что в дальнейшем даст возможность установить структуру самого люциферина *Henlea sp.*

Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ (проект № 0287-2021-0019)

Литература

1. Rodionova, N., Bondar, V. & Petushkov, V. // Dokl Biochem Biophys 386, 260-263 (2002).
2. Petushkov, V. & Rodionova, N. // Доклады академии наук 481, 451-454 (2018).
3. Dubinnyi, M. A. et al. // ChemistrySelect 5, 13155-13159 (2020).

СЕКЦИЯ 4

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

4.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ РЕКОМБИНАНТНОГО ФЕРМЕНТА МЕТАНОЛДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПОСЛЕ СТУПЕНЧАТОГО ДИАЛИЗА

Баклагина С.П.

Научно-исследовательский центр "БиоХимТех", Тула
sofiabaklagina@gmail.com

Метилотрофы служат основными биологическими поглотителями метана и других метилированных парниковых газов, а также используются в качестве средств биоремедиации и производстве топлива и химикатов. Распространенным метилотрофным организмом является *Methylobacterium extorquens*, который содержит фермент метанолдегидрогеназу (МДГ) в доминирующем количестве. Семейство MxaF относится к наиболее распространенному типу фермента в окружающей среде, поэтому изучение его стабильности при хранении является актуальной задачей.

В качестве материала для выделения белка использовали биомассу бактерий *M. extorquens* pCM160, выращенную на среде Канада. Выделение фермента МДГ проводили с помощью металл-хелатной аффинной хроматографии, основанной на образовании прочной связи белка с полигистидиновой меткой с комплексом никеля.

Для изучения стабильности МДГ при различных условиях хранения подготовили 4 образца МДГ, выделенных из *M. extorquens* pCM160. Эксперимент проводили по стандартной методике определения активности фермента МДГ спектрофотометрическим методом.

Анализируемые образцы хранили в микропробирках при +4°C и -20°C, в разных буферных растворах. Первым буферным раствором был элюирующий буфер, содержащий 100 мМ имидазола, 20 мМ Tris-HCl, 0,5 М NaCl, pH=8. Второй буферный раствор состоял из 20 мМ Tris-HCl. Для получения такого буфера был подобран ступенчатый диализ.

По получившимся результатам, можно сделать вывод, что удельная активность образца, хранившегося при +4°C, в элюирующем буфере снизилась на 5% на пятнадцатые сутки, в течение месяца на 93%. При -20°C, активность МДГ снизилась на 99% на третьи сутки. Данный вид хранения МДГ не позволяет использовать биоматериал при анализе в долгосрочной перспективе. Активность биоматериала, хранившегося при +4°C, в буфере 20 мМ Tris-HCl при pH=7, через месяц снизилась на 13%. При -20°C, активность МДГ снизилась на 6% через месяц, что позволяет использовать данный биоматериал при дальнейших измерениях.

Исследования выполнены при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания в области научной деятельности проект № FEWG-2021-0013 (Биокаталитические платформы на основе клеток микроорганизмов, субклеточных структур и ферментов в сочетании с наноматериалами).

4.2. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ КРИВИЗНЫ И СОСТАВА ЛИПИДНЫХ МЕМБРАН НА АССОЦИАЦИЮ ПОЛИПРОТЕИНА Gag ВИЧ

Блохина Я.В., Батищев О.В.

Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН,
Москва
ya.blokhina@gmail.com

Полипротеин Gag является важным компонентом вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Чтобы производить новые вирусы на плазматической мембране клетки-хозяина, множественные копии Gag кооперативно собираются на определенных участках мембраны. При этом, основные принципы самоорганизации белков вирусной оболочки до сих пор неизвестны. Целью данного исследования было определить роль геометрической кривизны и состава липидной мембраны в сборке Gag, используя модель риппл-фазы липидных бислоев.

В ходе экспериментов с бислойнными мембранами на подложке с использованием атомно-силовой микроскопии было замечено, что белок Gag вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) адсорбируется на риппл-фазе отрицательного заряженного бислоя в участках с отрицательной кривизной. Чтобы определить, существует ли предпочтение лишь к кривизне мембраны в отсутствие заряда, был проведен ряд экспериментов на риппл-фазе нейтрального бислоя. В качестве контрольного белка был использован альбумин. В ходе экспериментов было определено влияние липидного состава и кривизны мембраны на самоорганизацию полипротеина Gag вируса иммунодефицита человека.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 20-54-14006).

4.3. РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОИЗВОДНОГО МОНОТЕРПЕНОИДА - ПЕРСПЕКТИВНОГО ПРОТИВОПАРКИНСОНИЧЕСКОГО АГЕНТА С ЦЕЛЬЮ ПРОВЕДЕНИЯ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ *IN VIVO*

Горина Д.С.^{1,2}, Ластовка А.В.^{1,2}, Рогачев А.Д.^{1,2}, Подтуркина А.В.¹, Павлова А.В.¹, Волчо К.П.¹

¹Новосибирский государственный университет, Новосибирск

²Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Новосибирск
d.gorina@g.nsu.ru

Болезнь Паркинсона является вторым по распространенности нейродегенеративным расстройством после болезни Альцгеймера. Поиск и разработка противопаркинсонических агентов нового структурного типа, сочетающих высокую эффективность и минимальную токсичность, является актуальной задачей ввиду отсутствия эффективного лечения заболевания.

В отделе медицинской химии НИОХ СО РАН было получено новое производное монотерпеноида, имеющее рабочее название РА-96, противопаркинсоническая активность которого была подтверждена педенческими тестами. Для возможного внедрения соединения в медицинскую практику одной из основных задач является определение и исследование фармакокинетических параметров для разработки оптимальной лекарственной формы и определения режима дозирования вещества.

Для решения описанной задачи на начальном этапе была исследована возможность идентификации и определения соединения РА-96 различными физико-химическими методами: масс-спектрометрией в сочетании с ГХ, УФ-спектроскопией и тандемной масс-спектрометрией в сочетании с ВЭЖХ. На основе метода ВЭЖХ-МС/МС разработана чувствительная и селективная методика определения производного монотерпеноида в цельной крови. Валидация методики была выполнена в соответствии с международными стандартами (EMA, FDA).

В ходе работы получены и исследованы фармакокинетические (ФК) профили соединения при пероральном и внутривенном введении. Для перорального метода введения исследованы различные лекарственные формы и многократная схема дозирования. Определены ФК параметры, такие как биодоступность, общий клиренс, объем распределения, время полувыведения и время достижения максимальной концентрации. На основании полученных данных выбрана оптимальная лекарственная форма и схема ее дозирования для будущих исследований - двухэтапное введение терапевтической дозы РА-96 в суспензии с твин-80.

4.4. ИССЛЕДОВАНИЕ ФОСФОРИЛИРОВАННОГО БЕТА-АМИЛОИДА МЕТОДАМИ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Даничкина К.В.^{1,2}, *Стрельникова П.А.*^{2,3}, *Кузин А.А.*¹, *Бугрова А.Е.*², *Индейкина М.И.*², *Кононихин А.С.*^{2,3}

¹Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

²Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва

³Сколковский институт науки и технологий, Москва

danichkina.kv@phystech.edu

Болезнь Альцгеймера - хроническое нейродегенеративное заболевание, являющееся одной из распространенных причин смерти в мире. Полный механизм развития данного вида деменции до сих пор неизвестен, однако установлено, что течение болезни сопровождается патологическая активность бета-амилоидных пептидов [1]. Их агрегация приводит к формированию "бляшек" в тканях головного мозга что может быть триггером для начала нейродегенерации. Известно, что существенное влияние на физико-химические свойства бета-амилоида и, как следствие, его склонность к образованию нейротоксичных структур, оказывают посттрансляционные модификации пептида. Таким образом, анализ протеоформ бета-амилоида в биологических тканях и жидкостях важен для изучения механизма развития болезни Альцгеймера.

Одной из модификаций, встречающихся в патогенных агрегатах, является фосфорилирование по остаткам серина. В частности, было показано, что образование фосфорилированных форм бета-амилоида коррелирует с развитием симптомов Болезни Альцгеймера [2]. Целью данной работы стало исследование фосфорилированных форм бета-амилоида в спинномозговой жидкости. Идентификация пептидов p-Ser-8-A β производилась с использованием масс-спектрометрических инструментов MALDI TOF MS и LC-MS, а также методом иммуноблоттинга.

В результате проделанной работы был предложен подход к исследованию фосфорилированных бета-амилоидных пептидов с применением методов масс-спектрометрии. Кроме того, была произведена оценка содержания p-Ser-8-A β в образце спинномозговой жидкости пациента с болезнью Альцгеймера методом иммуноблоттинга.

Литература

1. Wang J, Gu BJ, Masters CL, Wang YJ. A systemic view of Alzheimer disease-insights from amyloid- β metabolism beyond the brain. *Nat Rev Neurol.* 2017;13(10):612-623.
2. Rijal Upadhaya A, Kosterin I, Kumar S, et al. Biochemical stages of amyloid- β peptide aggregation and accumulation in the human brain and their association with symptomatic and pathologically preclinical Alzheimer's disease. *Brain.* 2014; 137(Pt 3):887-903.

4.5. СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ ВЫДЕЛЕНИЯ БЕЛКА KCSA ИЗ МЕМБРАННОЙ ФРАКЦИИ *Escherichia coli* С ПОМОЩЬЮ SMA-EA И TRITON X-100

Деве Я.А., Юнусова В.А., Минеев К.С., Болдырев И.А., Кузьменков А.И.,
Василевский А.А.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, Москва
jakobsf205@gmail.com

Среди огромного разнообразия белковых молекул особый интерес представляют интегральные мембранные белки, вовлеченные во множество биологических процессов, таких как: регуляция ионного состава клетки, возбудимость клеточных мембран, а также клеточный сигналинг. При этом большое внимание исследователей уже несколько десятилетий привлечено к ионным каналам - белкам, осуществляющим пассивный ионный транспорт через клеточную мембрану. Однако серьезной проблемой в изучении интегральных белков, в том числе и ионных каналов, является трудоемкость их выделения и очистки. Поэтому неудивительно, что разработка новых подходов с использованием современных методик является актуальной задачей для данной области.

Целью настоящей работы была оптимизация протокола выделения K⁺-канала KcsA почвенной бактерии *Streptomyces lividans*, экспрессированного в клетках *Escherichia coli*. Для ее реализации были выбраны три подхода, первый из которых включал приготовление сферопластов *E. coli* с последующим получением препарата белка путем непосредственного ультрацентрифугирования солюбилизованных сферопластов. Во втором подходе использовалось ультразвуковое разрушение культуры кишечной палочки, а солюбилизация проводилась после ультрацентрифугирования. В обоих подходах в качестве солюбилизирующего агента был выбран неионный детергент Triton X-100 в концентрации, значительно превышающей критическую концентрацию мицеллообразования. Третий подход отличался от обозначенных использованием в качестве солюбилизирующего агента сополимера стирола и малеиновой кислоты, модифицированной этаноламином (SMA-EA). Для реализации вышеописанных подходов кодирующая последовательность мономера KcsA была клонирована в плазмидный вектор pET-28a, с его дальнейшей экспрессией в бактериальной системе. Выделение целевого белка проводилось с помощью металл-аффинной хроматографии, а качественная и количественная оценка - с помощью электрофореза в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях. Было показано, что солюбилизация KcsA из мембранной фракции напрямую с помощью Triton X-100 или SMA-EA отличается большей эффективностью, чем использование протокола, базирующегося на сферопластах.

Работа поддержана Российским научным фондом (грант № 22-74-10028).

4.6. ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ МЕМБРАННОЙ АКТИВНОСТИ БЕЛКА М1 ВИРУСА ГРИППА А

Дениева З.Г., Батищев О.В.

Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН,
Москва
zaret03@mail.ru

Вирус гриппа А является одним из наиболее изученных представителей оболочечных РНК-вирусов. Он попадает в клетку путем эндоцитоза, в ходе которого происходит слияние вирусной и клеточной мембран. Этот процесс катализируется поверхностным белком вируса гемагглютинином (НА). Считается, что закисление среды внутри эндосомы служит триггером для активации НА, его конформационных перестроек и образования поры слияния. Однако высвобождение вирусного генома в цитоплазму клетки требует разрушения расположенного под липидной оболочкой вируса каркаса из белков М1. Данный белок является одним из основных компонентов вируса гриппа А и участвует в нескольких стадиях его жизненного цикла. Тем не менее, роль белка М1 на стадии слияния вируса с эндосомой не до конца ясна. Например, участвует ли М1 в расширении поры слияния при закислении среды внутри эндосомы? Какие участки белка могут отвечать за его мембранную активность на данной стадии проникновения вируса в клетку? Таким образом, важно выяснить физико-химические механизмы разрушения белкового матрикса вируса, необходимого для выхода его генетического материала и инфицирования клетки.

В данной работе мы исследовали мембранную активность белка М1. Для этого мы создали модельную систему липидных мембран в условиях, аналогичных эндосомам клетки. Результаты исследования показали, что понижение рН среды с 7.0 до 5.0 приводит к формированию сквозных дефектов (пор) в мембране с адсорбированным на ней белком М1. Это свидетельствует о том, что разрушение белкового каркаса является рН-индуцированным, а сам белок М1 - активный участник процесса перестройки вирусной мембраны на стадии эндоцитоза.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 20-54-14006).

4.7. ИЗУЧЕНИЕ ЛИГАНД-РЕЦЕПТОРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИМИДЖИНГА КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ, ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКИ ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ НОЦИЦЕПТИВНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

Дубодел Е.С.¹, Козлов С.А.²

¹Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
dubodel.es@phystech.edu

В настоящее время электрофизиологические методы являются одними из самых распространенных в изучении ионных каналов. В нашей работе было показано, что исследования взаимодействия ваниллоидных каналов переменного рецепторного потенциала TRPV1 с известными агонистами и антагонистами методом флуоресцентного имиджинга имеет ряд преимуществ по сравнению с электрофизиологическими методами и приводит к аналогичным результатам. В качестве агониста использовался капсаицин, антагониста - капсаизипин. Методом флуоресцентного имиджинга было исследовано взаимодействие пептида HCRG21, выделенного из морской анемоны *Heteractis crista*, с TRPV1. HCRG21 показал антагонистическое действие на TRPV1, понижая активацию канала на 23%. Учитывая роль TRPV1 в физиологических процессах, связанных с ноцицепцией, так же, как и с астмой, аллергической нейропатией, тревожными расстройствами и многими другими патологическими состояниями [1], поиск веществ ингибиторов их активации актуален. Для поиска таких веществ и определения уровня активности сегодня чаще всего используются микроорганизмы и системы *in vitro* на их основе, в данной работе гетерологическая экспрессия ионных каналов TRPV1 осуществлялась в линии CHO клеток. В дальнейшем планируется продолжить исследование лиганд-рецепторных взаимодействий TRPV1 с другими ингибиторами и оптимизировать метод обработки данных флуоресцентного имиджинга, чтобы уменьшить стандартное отклонение.

Литература

1. Aghazadeh Tabrizi M, Baraldi PG, Baraldi S, Gessi S, Merighi S, Borea PA. Medicinal "Chemistry, Pharmacology, and Clinical Implications of TRPV1 Receptor Antagonists." *Med Res Rev.* 2017 Jul;37(4):936-983. doi: 10.1002/med.21427. Epub 2016 Dec 15. PMID: 27976413.

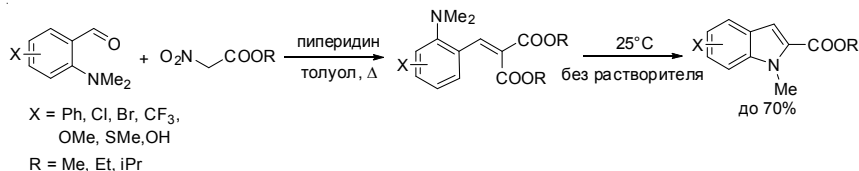
4.8. НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ЭФИРОВ ИНДОЛ-2-КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ

Зайцева Э.Р., Смирнов А.Ю.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
elvira19999@mail.ru

Одним из важнейших классов биологически активных соединений являются производные индола, на основе которых разработано множество препаратов против онкозаболеваний, паразитов и многих других болезней. В связи с этим поиск новых методов их получения не теряет своей актуальности и по сей день.

В ходе своей работы нами был открыт новый метод получения производных эфиров индол-2-карбоновой кислоты из нитроуксусных эфиров и 2-диметиламинобенальдегида. Как оказалось, после первичной конденсации альдегидной группы с CH_2 -фрагментом образующееся стирольное производное претерпевает необычную реакцию внутримолекулярной конденсации с отщеплением нитрогруппы. Стоит отметить, что указанная вторая стадия превращения происходила за несколько часов только в случае сухого вещества, однако в растворе полупродукт был стабилен в течение многих дней.



Всего нами была синтезирована большая библиотека соединений с различными заместителями в фенильном фрагменте молекулы и с разными эфирами нитроуксусной кислоты. Все вещества были выделены с хорошими выходами и охарактеризованы спектрами ^1H и ^{13}C ЯМР, а также методом масс-спектрометрии высокого разрешения. Дальнейшая наша работа будет посвящена поиску новых потенциальных биологических препаратов, в основе которых ключевым фрагментом является эфир индол-2-карбоновой кислоты и определению их биологической активности.

4.9. НОВЫЕ БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ ДЕПО-ФОРМЫ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ НУКЛЕОЗИДОВ

Зенченко А.А., Ословский В.Е., Варижук И.В., Дреничев М.С.

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва
kolomatchenkoa@yandex.ru

Нуклеозиды и их аналоги представляют собой один из наиболее перспективных классов соединений для создания новых прототипов противовирусных лекарственных препаратов. На сегодняшний день на основе нуклеозидов разработано и введено в клиническую практику около 30 противовирусных препаратов, одобренных FDA, при этом ежегодно возникает потребность в создании новых противовирусных агентов (Zenchenko A.A., et al. *Mol. Biol.*, 2021). Однако, новые модифицированные нуклеозиды часто наряду с противовирусной активностью проявляют высокую цитотоксичность, поэтому разработка стратегии, позволяющей снизить клеточную токсичность нуклеозидных аналогов при сохранении противовирусной активности, является актуальной задачей.

Ранее мы показали, что природный N^6 -бензиладенозин и его аналог N^6 -(3-фторбензил)аденозин проявляют высокую активность в отношении энтеровируса человека EV-A71 ($EC_{50} < 0.5$ мкМ), однако являлись цитотоксичными ($CC_{50} < 10$ мкМ) (Oslovsky V.E., et al. *Molecules*, 2017). Одним из подходов для снижения цитотоксичности данных нуклеозидов являлась разработка их депо-форм путём введения различного количества биodeградируемых остатков никотиновой кислоты в углеводный фрагмент с образованием сложноэфирных связей, гидролизуемых клеточными ферментами. Нами были синтезированы новые производные N^6 -бензиладенозина и N^6 -(3-фторбензил)аденозина, содержащие ди-*O*-никотиноильные, а также три-*O*-никотиноильные фрагменты в своей структуре. Целевые соединения были получены в ходе трёхстадийного синтеза с использованием различных методов, включающих ацилирование исходного субстрата в присутствии никотиновой кислоты и DCC с использованием селективных защитных групп, а также активацию 6 положения пурина с последующим нуклеофильным замещением.

Полученные *O*-никотиноилированные производные ингибировали репродукцию EV-A71 и оказались нетоксичными по сравнению с исходными нуклеозидами. Было показано влияние наличия никотиноильного заместителя в 5'-положении нуклеозида на количественные показатели цитотоксичности и противовирусной активности. Также с целью исследования метаболической деградации *O*-никотиноилированных производных в клетках был проведен ферментативный гидролиз N^6 -(3-фторбензил)-2',3',5'-три-*O*-никотиноиладенозина в присутствии эстераз (Cal B и PLE) (Zenchenko A.A., et al. *Toxicology in vitro*, 2022).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации МК-1657.2021.1.4.

4.10. ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ОКТА-КАТИОННЫХ КОМПЛЕКСОВ ФТАЛОЦИАНИНА НА МОДЕЛЬНОЙ ЛИПИДНОЙ МЕМБРАНЕ

Зыкова Д.Д.^{1,2}, Константинова А.Н.¹, Соколов В.С.¹

¹Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина РАН, Москва

²Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный
dasha_ddz1924@mail.ru

Фотосенсибилизаторы (ФС) - соединения, используемые в фотодинамической терапии опухолей и как антибактериальные препараты. Их фотодинамическая активность обусловлена способностью образовывать активные формы кислорода, используя энергию поглощенного света, которые в свою очередь окисляют жизненно-важные молекулы в клетке. Поиск новых эффективных ФС требует развития методов, позволяющих изучать их адсорбцию и фотодинамические свойства на клеточной мембране. Целью работы являлось исследование адсорбционной и фотодинамической эффективности новых ФС, синтезированных в ИФХЭ РАН, - окта-катионных комплексов фталоцианина с металлом магния (MgPcMe) и цинка (ZnPcMe) на бислойной липидной мембране (БЛМ), моделирующей клеточную мембрану. Адсорбцию ФС и разрушение встроенных в БЛМ молекул-мишеней синглетного кислорода регистрировали, измеряя скачок потенциала $\Delta\varphi_b$ на границе мембраны с раствором. Значения $\Delta\varphi_b$ определяли разработанным в лаборатории методом компенсации внутреннего поля (IFC), по изменению проводимости БЛМ, индуцированной нонакатином. а также по электрофоретической подвижности липосом. Добавление фталоцианина в раствор с одной стороны БЛМ приводило к изменению $\Delta\varphi_b$, знак которого соответствовал связыванию с мембраной положительно заряженных молекул этих соединений. Значения $\Delta\varphi_b$, измеренные методами IFC, и по проводимости с нонакатином, совпадали, откуда сделан вывод, что молекулы MgPcMe и ZnPcMe не проникают через мембрану. Наклон зависимости $\Delta\varphi_b$ от логарифма концентрации фталоцианина значительно превышал величину, предсказываемую теорией Гуи-Чепмена в предположении, что все заряды адсорбированных молекул лежат на поверхности мембраны. Значения $\Delta\varphi_b$ значительно превышали ξ - потенциалы липосом. Эти результаты объясняются погружением заряженных групп MgPcMe и ZnPcMe в гидрофобную область мембраны.

Фотодинамическая активность исследуемых фталоцианинов определялась по скорости R разрушения молекулы-мишени синглетного кислорода (1O_2) di-4-ANEPPS при освещении БЛМ. Адсорбцию и разрушение молекул di-4-ANEPPS на БЛМ регистрировали по изменению $\Delta\varphi_b$. Зависимость R от концентрации в растворе была немонотонной: сначала наблюдался линейный рост, затем выход на плато, а при высоких концентрациях величина R уменьшалась. Эта зависимость объяснялась тушением синглетного кислорода молекулами фталоцианина в мембране.

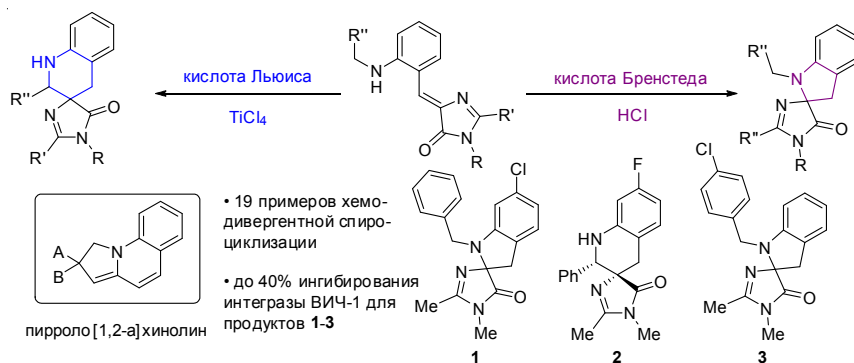
4.11. ХЕМОДИВЕРГЕНТНАЯ СПИРОЦИКЛИЗАЦИЯ (БЕНЗИЛИДЕН)ИМИДАЗОЛОНОВ - АНАЛОГОВ ХРОМОФОРА ЗЕЛЕНОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БЕЛКА

Иванов Д.С.^{1,2}, Смирнов А.Ю.¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
d-ivanov.dmitry@yandex.ru

Исследование и поиск новых биологически активных соединений требует выявления и оптимизации химических процессов, позволяющих получать заданные структуры в одну стадию и из доступных субстратов. Примером такого процесса может служить хемодивергентная спироциклизация (бензилиден)имидазолонов - структурных аналогов хромофора зеленого флуоресцентного белка (ЗФБ). Под воздействием кислотных реагентов различной природы происходит циклизация субстрата: кислоты Льюиса приводят к образованию спиропроизводных тетрагидрохинолина, а кислоты Бренстеда направляют циклизацию в сторону производных индолина. Особое внимание к продуктам циклизации вызвано их структурным сходством с производными пирроло[1,2-а]хинолина - эффективного ингибитора интегразы ВИЧ-1.



В данной работе продемонстрирована возможность проведения спироциклизации на 19 субстратах по обоим направлениям, изучено электронное и стерическое влияние заместителей в молекуле исходного (бензилиден)имидазольона, определены механизмы циклизации. В результате были достигнуты высокие выходы, вплоть до количественных. Полученная библиотека соединений была подвергнута исследованиям по ингибированию интегразы ВИЧ-1, и три вещества продемонстрировали высокий процент ингибирования (до 40%). В будущих исследованиях эти соединения могут быть модифицированы для улучшения их активности против интегразы ВИЧ-1.

4.12. СОЛЮБИЛИЗАЦИЯ BODIPY ЛЮМИНОФОРОВ ПЛЮРОНИКОМ F-127 ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ВО ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Калинкина В.А.^{1,2}, Антина Л.А.²

¹Ивановский государственный химико-технологический университет, Иваново

²Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, Иваново
valekalinkina@yandex.ru

Борфторидные комплексы дипиррометенов (BODIPY) - биосовместимые люминофоры нового поколения с интенсивным поглощением, флуоресценцией и/или фосфоресценцией в области "фототерапевтического окна". Это обуславливает широкие возможности их применения как в качестве компонентов различных оптических устройств, так и биомаркеров, молекулярных зондов и ФДТ агентов. Серьезным ограничением практического применения BODIPY люминофоров являются их высокая гидрофобность, а также склонность к агрегации в средах с высоким содержанием воды. Для солюбилизации не растворимых в воде люминофоров можно использовать амфифильные блок-сополимеры - плуроники, способные к самосборке в растворах в мицеллярные структуры различной морфологии и к образованию стабильных супрамолекулярных ассоциатов с красителями.

Цель исследования заключалась в изучении спектральных свойств и агрегационного поведения красителей BODIPY, излучающих в красной области спектра, в растворах органических растворителей и мицеллах плуроника F-127. Исследованы спектральные свойства красителей в растворах органических растворителей различной природы. Установлено, что в водно-органических смесях (ТГФ-вода), краситель формирует смесь агрегатов Н- и J-типа. Подобрана оптимальная методика солюбилизации люминофора мицеллами плуроника F-127. Максимальная эффективность солюбилизации наблюдалась при содержании плуроника ($C_{пр} = 3,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л), что приблизительно соответствует его значению ККМ при 25°C. Изучено влияние компонентного состава мицеллярного раствора на спектральные характеристики и солюбилизацию красителей плуроником. Полученные мицеллы краситель-плуроник обладают интенсивной флуоресценцией в буферной среде (рН=7.45). Показана высокая стабильность полученных мицеллярных растворов, отмечено, что высокие концентрации красителя приводят к более интенсивной его агрегации во времени и понижению эффективности поглощения и флуоресценции. Полученные результаты позволяют рекомендовать амфифильный блок-сополимер плуроник F-127 в качестве наноразмерного средства доставки биоактивных высокогидрофобных BODIPY красителей и исследования возможности применения полученных систем в качестве биомаркеров.

4.13. ВЛИЯНИЕ ПРОТОКОЛА РАСЧЁТА НА ОПИСАНИЕ СТАДИИ НУКЛЕОФИЛЬНОЙ АТАКИ РЕАКЦИИ ГИДРОЛИЗА НИТРОЦЕФИНА МЕТАЛЛО- β - ЛАКТАМАЗОЙ L1

Каримуллина Л.Б.¹, Кривицкая А.В.^{2,3}, Хренова М.Г.^{2,3}

¹НИЯУ "МИФИ", Москва

²ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

³МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

lada.karimullina@mail.ru

На сегодняшний день известно о резком снижении эффективности β -лактамных антибиотиков, что связано с широким распространением бактерий с множественной лекарственной устойчивостью. Превалирующим механизмом устойчивости этих бактерий к β -лактамам является экспрессия ферментов β -лактамаз, способных гидролизовать β -лактамное кольцо антибиотика. В одном из подклассов этих ферментов, металло- β -лактамазах (МБЛ), активный центр содержит один или два катиона цинка. МБЛ обладают высокой каталитической активностью и широким спектром субстратной специфичности, включающем практически все β -лактамные антибиотики за счет сильной поляризации активного центра и гидроксид аниона в качестве нуклеофила. Для поиска новых антибактериальных препаратов и влияния на антибиотикорезистентность актуальной задачей является установление точных молекулярных механизмов химических реакций в активных центрах данных ферментов. Такие современные подходы, как комбинированный метод квантовой-механики/молекулярной механики (КМ/ММ) позволяют это сделать. Надежные данные из описания активного центра можно получить, используя теорию функционала электронной плотности (ТФП) в квантовой подсистеме. Однако результаты зависят от используемого функционала в ТФП.

В работе проведен систематический сравнительный анализ результатов, получаемых с гибридными функционалами с различным вкладом Хартри-Фоковского обмена, а также влияние эмпирической дисперсионной поправки. В работе анализируется первая стадия реакции гидролиза, включающая нуклеофильную атаку нитроцефина гидроксид анионом в активном центре МБЛ L1. Рассчитаны профили энергии Гиббса с применением метода зонтичной выборки в рамках молекулярно-динамических расчётов с потенциалами КМ/ММ, а также проведен анализ эффекта активации субстрата ферментом с помощью электронно-плотностных дескрипторов. Рассчитанные константы скорости элементарной стадии соотнесены с экспериментальными данным по быстрой кинетике. Выбранные методы дают согласованную картину по константам скоростей, однако имеются существенные различия в описании активации субстрата ферментом и стабилизации интермедиата реакции.

Работа выполнена при поддержке РФФ (проект 18-74-10056).

4.14. ОПТИМИЗАЦИЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИНДИКАТОРА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ АКТИВНЫХ ФОРМ ГАЛОГЕНОВ

Катруха В.А.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
katrukhav@gmail.com

Воспалительные реакции организма сопровождаются образованием редокс-активных соединений, к которым относятся активные формы кислорода, (псевдо)гипогалогенные кислоты, активные формы серы и др. Для визуализации динамики (псевдо)гипогалогенных кислот в живых клетках ранее был разработан генетически кодируемый биосенсор *Nurocrates* (*Nurochlorite Ratiometric Sensor*). *Nurocrates* получен путем интеграции кругового пермутанта желтого флуоресцентного белка в область подвижной петли репрессора транскрипции *NemR* из *E. coli*.

Анализ пространственной структуры *Nurocrates* выявил аминокислотные остатки, предположительно участвующие в передаче сигнала от сенсорного домена к хромофору флуоресцентного белка (Q99 и N95). Ранее была создана мутантная версия с заменой C355S, которая не реагирует с галаминами *in vitro*, но сохраняет ответ на гипогалогенные кислоты. Известно, что существенная часть вырабатываемых в живых системах гипогалогенных кислот моментально реагирует с аминокислотными группами биомолекул, конвертируясь в галамины. Данное обстоятельство позволяет использовать мутант C355S в качестве инактивированного контроля. При высокой концентрации гипогалогенных кислот, например, в фаголизосоме нейтрофила, существует вероятность их сохранения в среде в непрореагировавшем виде, что потенциально будет приводить к появлению ответа у контрольной версии. Ответ контрольной версии C355S *in vitro* может быть обусловлен неспецифическим взаимодействием с хлорноватистой кислотой остатков M29, M59, M22 и M126. Их окисление и, потенциально, образование ковалентных сшивок с расположенными вблизи них в структуре белка лизинами K52 и K110 может приводить к ответу сенсора на добавку окислителя. Мы выделили и протестировали контрольные версии сенсора с дополнительными заменами M29A, M59A, M122A, M126A, K52A и K110A.

Для уточнения роли остатка Q99 в передаче сигнала, мы получили вариант сенсора с заменой Q99A: последующее тестирование данной конструкции опровергло ключевую роль боковой цепи Q99 в сопряжении доменов. Остаток аспарагина N95, расположенный у самого начала подвижной петли *NemR*, взаимодействует с хромофором через связанную молекулу воды. Для проверки роли этой позиции мы протестировали библиотеку клонов, содержащую все возможные мутации в обсуждаемом положении. Несмотря на то, что мы обнаружили версии, полностью нечувствительные к гипохлориту, они не могут быть использованы в качестве контроля *in vivo*, поскольку их спектральные свойства существенно отличаются от параметров *Nurocrates*.

4.15. МОДИФИКАЦИЯ ПОЛИМЕРА SMA ДЛЯ СТРУКТУРНОЙ БИОЛОГИИ

Кислова С.О.^{1,2}, Мотов В.В.^{2,3}, Минеев К.С.², Болдырев И.А.²

¹Российский химико-технологический университет имени Д.И.

Менделеева, Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова РАН, Москва

³Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

s.o.kislova@gmail.com

Изучение мембранных белков является одной из основных задач современной биологии. Недавние исследования показали, что гидролизованная форма амфифильного сополимера на основе малеинового ангидрида и стирола (Styrene maleic anhydride, SMA) способна образовывать липидные нанодиски, которые позволяют изучать мембранные белки в нативном окружении.

Целью данной работы является исследование структуры SMA и создание новых модификаций этого полимера, которые позволят преодолеть имеющиеся ограничения и расширить область потенциальных применений полимерных нанодисков в будущих исследованиях. Нами был произведён конформационный анализ мономеров SMA с различным зарядом и выявлена зависимость структуры соединения от кислотности среды методами квантовой химии. Показано, что двугранный угол между двумя карбоксильными группами в нейтрально заряженной молекуле составил приблизительно 50° , в молекуле с зарядом -1 – 60° , а с зарядом -2 – 180° .

Путём нуклеофильного присоединения ряда агентов (этанолламин, диэтанолламин, триметил-(2-аминоэтил)аммония хлорид) и раскрытия цикла синтезированы амфифильные полимеры, аналоги SMA, и охарактеризованы методами ЯМР, ИК, DLS. Структура полученных полимеров также изучена с помощью методов вычислительной химии. Была выявлена связь структуры полимера-аналога SMA со способностью образовывать липидные нанодиски.

Исследования выполнены в рамках гранта РФФИ № 22-14-00020.

4.16. ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ И Е-БЕЛКА КОРОНАВИРУСА С МОДЕЛЬНЫМИ ЛИПИДНЫМИ МЕМБРАНАМИ МЕТОДОМ ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ

Кононова П.А., Селютина О.Ю., Поляков Н.Э.

Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского СО РАН,
Новосибирск
kononova_polina@bk.ru

Глицирризиновая кислота (ГК) является основным активным компонентом корня солодки (*Glycyrrhiza glabra*). Имеется много данных о противовирусной активности глицирризиновой кислоты, в том числе об активности в отношении SARS-коронавируса. Одним из возможных механизмов противовирусного действия считается предотвращение слияния оболочки вируса с плазматической мембраной клетки-хозяина. Ингибирование Е-белка снижает вирусную патогенность, что позволяет предположить, что Е-белок является потенциальной противовирусной мишенью. Роль Е-белка в функционировании и патогенезе коронавирусов в целом и SARS-CoV-2 в частности неясна. Проверяться гипотеза о направленном воздействии глицирризиновой кислоты на Е-белок коронавируса.

Взаимодействие ГК с липидными мембранами изучалось на модели липосом (DOPC, POPC, DPPC) и бицелл DMPC/ДНРС. Используя разные методы ЯМР-спектроскопии (одномерные спектры, времена T_1 и T_2 релаксации, sNOESY), были получены доказательства того, что ГК встраивается в липидный бислой. Далее получили подтверждение наличия взаимодействия между ГК и трансмембранным доменом Е-белка SARS-CoV-2 (ЕТМ) в водной среде. Встраивание ЕТМ в бислой оценивали по изменению времен релаксации T_1 , которые связаны с изменением подвижности. Времена релаксации ядер ^1H и ^{31}P липидов уменьшались для бицелл с ЕТМ, добавление ГК влияло на время релаксации ядер ^{31}P и ^1H терминальных CH_3 -групп, но не затрагивало $\text{N}+(\text{CH}_3)_3$ -группы. Для определения локализации ЕТМ и молекул глицирризиновой кислоты в липидном бислое использовали ЯМР-спектроскопию с эффектом Оверхаузера (NOESY). Было получено подтверждение, что и глицирризиновая кислота, и трансмембранный домен Е-белка встраиваются в липидный бислой. Также, NOESY-спектры не показали наличие взаимодействия между глицирризиновой кислотой и трансмембранным доменом Е-белка SARS-CoV-2. При этом времена релаксации для пептида существенно изменялись в присутствии ГК, что свидетельствует об опосредованном влиянии ГК на ЕТМ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ № МК-1580.2021.1.3.

4.17. РЕЦЕПТОРЫ СЕМЕЙСТВА Trk: СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ И ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ЛЕКАРСТВАМИ В ОБЛАСТИ МЕМБРАНЫ

Кот Э.Ф.^{1,2}, Васильева Е.В.³, Шабалкина А.В.^{1,2}, Гончарук С.А.¹, Арсеньев А.С.^{1,2}, Минеев К.С.^{1,2}

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

³Сколковский институт науки и технологий, Москва

kot@phystech.edu

Нейротрофины - белковые факторы роста, играющие ключевую роль в развитии нервной системы. В последние годы установлено, что они также принимают активное участие и во многих других жизненных процессах нейронов, таких как дифференциация, миграция, апоптоз и синаптическая пластичность. Изменение уровней экспрессии нейротрофинов может приводить к различным пагубным синдромам, таким как боль, агрессия, депрессия, наркотическая зависимость и прочим. Такой спектр проявлений обусловлен не только разнообразием нейротрофинов, но и их рецепторами.

Рецепторы Trk - специфические рецепторы нейротрофинов, среди которых наиболее изучен TrkA. Согласно недавним исследованиям, TrkA является перспективной терапевтической мишенью для лечения не только нейропатий, но и ряда онкологических заболеваний, однако для этого рецептора пока не установлен детальный механизм активации. В то же время другой член семейства Trk, TrkB, скорее всего взаимодействует с психоактивными веществами, в том числе с классическими антидепрессантами (Casarotto et al, Cell 2021). Это особенно интересно в свете сомнений в актуальности серотониновой теории возникновения депрессии (Moncrieff et al, Mol. Psych. 2022).

В данной работе методом ЯМР-спектроскопии была исследована связь трансмембранного и примембранного доменов человеческого TrkA нейронального типа, а также трансмембранный домен человеческого TrkB. Была рассчитана первая экспериментальная структура димерного трансмембранного домена TrkB, а также начато исследование его взаимодействия с лекарствами в мембраноподобных средах. Кроме того, установлено, что примембранный регион TrkA не имеет стабильной вторичной структуры, однако через него каким-то образом передается сигнал внутрь клетки. При введении в примембранный регион активирующей мутации K410C, замыкающей белок в ковалентный дисульфидный димер, активный без лиганда (Vilar et al, JBC 2020), удалось пронаблюдать новое состояние ТМД TrkA, скорее всего соответствующее активному состоянию рецептора; ингибирующая же мутация не оказывает существенного влияния на структуру белка. Все полученные данные говорят в пользу прямого связывания примембранного региона TrkA с нейротрофином, а сравнение структур трансмембранных доменов TrkA и TrkB позволяет предположить, что такой механизм может быть характерен и для других Trk.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта № 22-14-00130.

4.18. ВЛИЯНИЕ 7-МЕТИЛГУАНИНА НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПОЛИ(АДФ-РИБОЗО)-ПОЛИМЕРАЗЫ С НУКЛЕОСОМОЙ

Лобанова А.А.

МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

Angelina.Lobanova@student.msu.ru

Геном живых организмов постоянно находится под воздействием повреждающих факторов, в связи с чем необходимо наличие систем, предотвращающих негативные для организма последствия. К таким системам относят системы репарации. Один из механизмов регуляции репарации ДНК включает поли(АДФ)рибозилирование - обратимую посттрансляционную ковалентную модификацию белков гомополимерной цепью из АДФ-рибозы [1]. Белки, осуществляющие поли(АДФ)рибозилирование, относятся к семейству PARP (поли(АДФ-рибозо)-полимераз). PARP-2 - один из белков семейства PARP. Он активируется при повреждении ДНК и что позволяет опухолевым клеткам выжить [3]. Разработка эффективных и нетоксичных соединений, воздействующих на PARP-2 и способных подавлять развитие различных типов рака, по-прежнему представляет важную и сложную проблему. Природное соединение 7-метилгуанин может быть рассмотрено в качестве перспективного компонента противоопухолевой терапии, как ингибитора PARP-2, по причине своей безопасности и эффективности [2].

Целью данной работы было изучить влияние 7-метилгуанина на взаимодействие PARP-2 с двумя типами нуклеосом (в случае наличия и отсутствия посттрансляционных модификаций на гистонах). Было выяснено, что PARP-2 связывается с нуклеосомами (образует комплексы), а также меняет конформацию нуклеосом в большей степени в присутствии 7-метилгуанина, по сравнению с тем, что можно наблюдать в его отсутствие. Также был произведен эксперимент с целью увидеть влияние посттрансляционных модификаций на гистонах в нуклеосоме на связывание с ней PARP-2. В результате было показано, что нуклеосомы с посттрансляционными модификациями на гистонах образовывали комплексы с PARP-2 хуже, чем нуклеосомы с гистонами без посттрансляционных модификаций.

Литература

1. Кутузов М.М. Роль PARP2 в репарации ДНК. Молекулярная биология, 2014, том 48, № 4, с. 561-572.
2. Нилов Д.К. и др. Ингибирование поли(ADP-рибозо)- полимеразы метаболитом нуклеиновых кислот 7-метилгуанином. Acta Naturae. TOM 8 No 2 (29) 2016.
3. Richard et al. Beyond PARP1: The Potential of Other Members of the Poly (ADP-Ribose) Polymerase Family in DNA Repair and Cancer Therapeutics. Front. Cell Dev. Biol., 14 January 2022.

4.19. МОДЕЛЬ ДЛЯ CLEM-МИКРОСКОПИИ НА ОСНОВЕ ДРОЖЖЕЙ АЭРОБНОГО ТИПА ОБМЕНА

Мустафин Д.А.¹, Rogov A.G.²

¹Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

²НИЦ "Курчатовский институт", Москва

mustafin.da@phystech.edu

Корреляционная свето-электронная микроскопия (CLEM) - комплексный метод визуализации биологических объектов, позволяющий получать информацию как о клеточной функции (флуоресцентная микроскопия), так и об ультраструктуре (электронная микроскопия). Криогенная CLEM накладывает определенные ограничения на пробоподготовку, вследствие чего наиболее подходящими маркерами для такого рода исследований являются генетические конструкции, экспрессируемые в клетках и содержащие гены флуоресцентного белка и зонда, создающего электронно-плотную область.

Митохондрии в клетках участвуют в процессах метаболизма, а их дисфункцию связывают со многими возрастными социально-значимыми заболеваниями, в том числе нейродегенеративными. Изучение связи морфологии и ультраструктуры митохондрий является одним из перспективных областей применения криогенной CLEM.

Наиболее простой моделью для изучения консервативных внутриклеточных процессов являются дрожжи. Для исследований, связанных с биоэнергетикой митохондрий, традиционные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* подходят плохо, поэтому в данной работе использовали дрожжи аэробного типа обмена *Yarrowia lipolytica*, обладающие полноценными митохондриями с дыхательной цепью "животного типа", и в норме имеющие разветвленный митохондриальный ретикулум.

Методом клонирования GoldenGate были созданы мутанты дрожжей *Y. lipolytica*, экспрессирующие конструкцию для CLEM-микроскопии, содержащую зеленый флуоресцентный белок, слитый с одной из субъединиц ферритина, накапливающего при сборке ионы железа из среды инкубации и создающего электронно-плотную частицу для детекции электронным микроскопом.

4.20. РАЗРАБОТКА ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БИОСЕНСОРА ДЛЯ РЕГИСТРАЦИИ АЦИЛ-КоА *IN VIVO*

Рапота Д.Д., Билан Д.С.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
dianarapota7@gmail.com

Изучение динамики концентраций клеточных метаболитов позволяет судить о состоянии живого организма. Поэтому разработка чувствительных инструментов для их детекции является важной задачей, решение которой расширит представления о процессах, протекающих в живых организмах при физиологических и патологических состояниях. Длинноцепочечные тиоэферы жирных кислот (ацил-КоА) - ключевые интермедиаты метаболизма липидов, также выполняющие функции сигнальных молекул. Однако изучение функций жирных кислот и их производных в настоящее время затруднено вследствие ограниченного набора методов их визуализации *in vivo*.

Одной из успешных на сегодняшний день технологий прижизненного мониторинга клеточных процессов являются генетически кодируемые флуоресцентные биосенсоры. Они основаны на флуоресцентных белках и могут экспрессироваться внутри живых клеток. Учитывая высокую эффективность этого типа аналитических инструментов, у нас проявилась идея создания генетически кодируемого флуоресцентного биосенсора для детекции длинноцепочечных ацил-КоА. Данная технология позволит не только измерять динамику концентрации ацил-КоА *in vivo*, но также изучать локализацию процессов, в которые они вовлечены. Для дизайна сенсора мы использовали сrYFP (circularly permuted yellow fluorescent protein) в качестве флуоресцентного домена; и транскрипционный фактор бактерии *V. cholera* FadR в качестве лиганд-связывающего домена. FadR - природный сенсор длинноцепочечных ацил-КоА, который регулирует метаболизм жирных кислот у многих видов бактерий. В структуру FadR был интегрирован сrYFP таким образом, что при связывании лиганда конформационные перестройки FadR изменяют спектральные свойства флуоресцентного белка. Изменение флуоресценции сrYFP в ответ на разные концентрации ацил-КоА можно регистрировать при помощи флуоресцентной микроскопии и спектрофлуориметрии.

К настоящему моменту, нами была получена и проанализирована в экспериментах *in vitro* версия сенсора, селективно связывающая длинноцепочечные ацил-КоА с высокой амплитудой ответа. Вместе с этим, мы установили, что оптические свойства данной версии слабо зависят от pH в физиологическом диапазоне. Данная характеристика сенсора позволит избежать артефактов, вызванных сдвигами в значении pH, в экспериментах *in vivo*. Далее мы планируем изучить работу полученной версии сенсора в культурах клеток и на модельных организмах, чтобы установить перспективность его применения для визуализации процессов *in vivo*.

4.21. МЕМБРАНОТРОПНЫЕ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА НИТРОЗИЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА С ПЕНИЦИЛЛАМИНОВЫМИ ЛИГАНДАМИ

Савушкин М.А.¹, Файнгольд И.И.², Полетаева Д.А.², Солдатова Ю.В.², Санина Н.А.^{1,2}

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

²ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН,

Черноголовка

savushkin_maxim@mail.ru

Монооксид азота (NO) является медиатором множества биохимических и физиологических процессов в живых организмах. Биядерные нитрозильные комплексы железа являются синтетическими моделями активных центров нитрозильных [2Fe-2S]-белков - природных резервуаров NO. Данные соединения представляют значительный интерес для разработки потенциальных лекарственных препаратов для NO-терапии. В данной работе изучены мембранотропные и антиоксидантные свойства катионного биядерного тетранитрозильного комплекса железа с пеницилламиновыми лигандами $[\text{Fe}_2(\text{SC}(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{NH}_3)\text{COOH})_2(\text{NO})_4]\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (ПЕН). Мембранотропные свойства ПЕН изучали с помощью метода люминесцентных зондов. В качестве зондов в работе использовали эозин Y и 2.7-дибромпрофлавин. Исследования проводили на модельных мембранах фосфатидилхолиновых липосом. С помощью спектрофлуориметра Agilent Cary Eclipse регистрировали спектры флуоресценции зондов в водных растворах и в составе фосфатидилхолиновых липосом. Было обнаружено, что ПЕН является тушителем триплетных возбужденных состояний зондов. Определены константы Штерна-Фольмера в водных растворах и в структуре фосфатидилхолиновых липосом. Концентрационные зависимости тушения флуоресценции зондов в водных буферных растворах значительно отличаются от значений для фосфатидилхолиновых липосом, что указывает на эффективное взаимодействие ПЕН с мембраной в области полярных головок фосфолипидов. Антиоксидантную активность ПЕН определяли в гомогенате мозга мышей методом хемилюминесценции (ХЛ) по изменению люминесценции люминола, опосредованной взаимодействием хромофора со свободными радикалами, образование которых инициируется трет-бутилгидропероксидом. Было показано снижение светосуммы ХЛ люминола при действии ПЕН в диапазоне концентраций от 1 до 100 мкМ. Значение IC_{50} для ПЕН составило $3,6 \pm 0,9$ мкМ. Снижение свечения люминола свидетельствует об антиоксидантной активности ПЕН. Уменьшение интенсивности ХЛ люминола при действии ПЕН обусловлено взаимодействием NO с радикалами липидов, в результате обрывается цепь свободнорадикального окисления.

Синтез нитрозильного комплекса ПЕН выполнен в рамках государственного задания № АААА-А19-119071890015-6. Исследования мембранотропных и антиоксидантных свойств нитрозильного комплекса ПЕН поддержаны грантом Российского научного фонда (проект № 22-24-00764).

4.22. ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ ЭУКАРИОТИЧЕСКОГО И ПРОКАРИОТИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ МЕТОДОМ КР-СПЕКТРОСКОПИИ

Сенковенко А.М.

МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
senkovenkoam@my.msu.ru

Внеклеточные везикулы (ВВ) - это частицы с диаметром от 50 нм до 5 мкм, окруженные липидным бислоем, секретируемые клетками во внеклеточное пространство. Внеклеточные везикулы классифицируют по происхождению, размерам и выполняемым функциям. ВВ в больших количествах содержатся в биологических жидкостях или средах культивирования любых клеток. Механизмы образования ВВ различаются у эукариот и прокариот, что отражается и на их составе. Эукариотические ВВ являются перспективным объектом для исследований в области регенеративной медицины, а изучение состава везикул, секретируемых бактериями, позволит лучше понять механизмы возникновения инфекционных заболеваний.

Спектроскопия комбинационного рассеяния (КР-спектроскопия) - оптический метод исследования, хорошо подходящий для определения химического состава биологических объектов. Главными преимуществами метода являются безопасность для исследуемого образца, возможность проводить исследования как на высушенном, так и на жидком биоматериале.

Наша работа посвящена отработке методик, улучшающих поиск различий между образцами как прокариотических, так и эукариотических везикул. В этом исследовании рассмотрены особенности пробоподготовки для КР-спектроскопии везикул из разных источников. В экспериментах использовались как клинические образцы ВВ, так и выделенные из сред культивирования клеточных линий H1299, A549, Colo704 и др. Показаны различия в спектрах, связанные как с изменением набора полос, так и с изменением соотношений интенсивности между полосами, указывающими на наличие разных химических групп. Кроме того, проведены опыты по экстракции липидов из везикул, в частности ВВ бактерий рода *Bacteroides* и ВВ, выделенных из среды культивирования линии A549. Спектры экстрагированных липидов сравнивали с нативными везикулами, среди главных отличий отмечались исчезновение полос Amide и изменение структуры сложного пика, находящегося в области 2800-3200 см⁻¹. Также была проведена оценка липидного состава экстрактов по спектрам липидов, встречающимся в литературе.

Таким образом, в данной работе рассмотрены методические аспекты работы с ВВ методом КР-спектроскопии и проведены сравнения спектров везикул, имеющих разное происхождение. Также в ходе исследования проведены сравнения спектров липидов эукариотических и прокариотических везикул.

4.23. АРИЛИДЕНРОДАМИНЫ КАК ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ СЕНСОРЫ ПОЛЯРНОСТИ СРЕДЫ

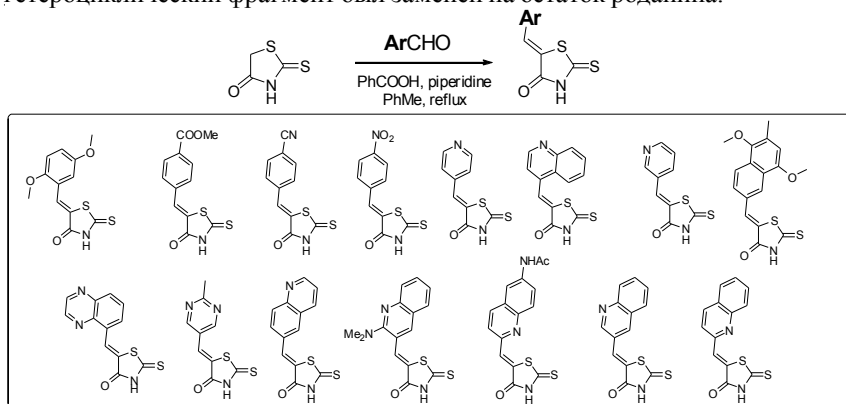
Соколов А.И., Мяснянко И.Н., Баранов М.С.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
tonychem@yandex.ru

Флуоресцентное мечение является часто используемым методом исследования живых объектов и процессов, происходящих в них. Один из используемых подходов в мечении заключается в применении низкомолекулярных веществ - флуорогенов, которые флуоресцируют только при взаимодействии с исследуемым объектом. Создание новых систем флуоресцентной визуализации, основанных на использовании флуорогенных веществ представляет собой важную задачу современной химии.

Ранее в нашей работе мы создали и изучили ряд веществ, производных арилиденимидазалаона, с выраженным варьированием квантового выхода флуоресценции (КВФ) происходящем в зависимости от свойств растворителя. Мы показали, что они могут быть использованы для селективного флуоресцентного окрашивания органелл клеток. Также мы выяснили, какие именно заместители следует вводить в такие молекулы, чтобы этот эффект был наиболее выражен [1].

В настоящей работе мы синтезировали серию веществ, структурно схожих с полученными арилиденимидазалаонами, в которых гетероциклический фрагмент был заменен на остаток роданина.



Полученные вещества потенциально являются флуорогенами, сенсорами полярности, которые потенциально могут быть использованы для флуоресцентного мечения в живых системах.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФ №18-73-10105.

Литература

1. Perfilov M.M., Zaitseva E.R., Smirnov A. Y., Mikhaylov A.A., Baleeva N.S., Myasnyanko I.N., Mishin A.S., Baranov M.S. Environment-sensitive fluorogens based on a GFP chromophore structural motif// *Dyes and Pigments* 2022. T. 198. C.110033.

4.24. ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОНУТРИЕНТОВ, ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ В ГЕЛЕОБРАЗОВАТЕЛИ НА ОСНОВЕ ПРИРОДНЫХ БИОПОЛИМЕРОВ

Сорокина У.Е.

Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь
ulianasorokina100920@gmail.com

На сегодняшний день, существует такая проблема как несовместимость определенных витаминов, поскольку некоторые витамины являются антагонистами друг друга. И поэтому для полноценного усвоения витамины-антагонисты нужно разделять в пространстве и времени употребления. Для решения этой проблемы можно использовать метод капсулирования в разные слои капсул разных витаминов-антагонистов. Тогда благодаря разному времени растворения определенных слоёв капсулы и разной среде растворения (желудочная среда, кишечная среда и т.д.) несовместимые витамины не будут совмещаться и будут полноценно усваиваться. В качестве модельных витаминов взяты рутин и аскорбиновая кислота. В качестве гелеобразователей взяты: желатин, геллановая камедь и лецитин.

В данной работе отобрано исследование изменения количественного содержания рутина и аскорбиновой кислоты в растворах с разными желирующими агентами под влиянием различных факторов с помощью методов титриметрии (алкилометрии и перманганатометрии) и тонкослойной хроматографии.

В результате исследования выбраны и теоретически обоснованы оптимальные условия хроматографирования аскорбиновой кислоты с различными гелеобразными агентами (желатин, геллановая камедь, лецитин) в тонком слое сорбента: элюент - Этанол-гексан (3:1); Этилацетат-ледяная уксусная кислота (8:2); Бензол-этанол-уксусная кислота-ацетон (70:20:5:5); проявитель - 5% спиртовой раствор фосфорномолибденовой кислоты; пары йода.

А так же наблюдали изменение количественного содержания рутина и аскорбиновой кислоты в растворах, при разных желирующих агентах в зависимости от продолжительности хранения растворов. Больше содержание рутина сохраняется в геллановой камеди (25%), меньшее - в желатине (22,5%); большее содержание аскорбиновой кислоты сохраняется в желатине (37%), меньшее - в лецитине (22,%)

Максимальное содержание рутина было в желатине (98%), максимальное содержание аскорбиновой кислоты было в геллановой камеди (96%)

Таким образом, данный метод разделения витаминов можно использовать для пространственного и временного разделения витаминов-антагонистов.

4.25. ВЛИЯНИЕ ХИНОНОВ-ХЕЛАТОРОВ НА СКОРОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В МИЦЕЛЛАХ ЛИНОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ

Ульянова М.А., Селютин О.Ю., Поляков Н.Э.

Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского СО РАН,
Новосибирск
m.ulyanova1@g.nsu.ru

Антрахиноны, или антибиотики антрациклинового ряда, широко применяются в медицине, в частности, в противораковой терапии. Основной механизм действия данных соединений заключается в интеркаляции азотистых оснований смежных участков обеих спиралей ядерной и митохондриальной ДНК, блокировке действия ДНК- и РНК-полимераз, что прекращает репликацию и транскрипцию. Другим аспектом их действия является генерация свободных радикалов и активных форм кислорода (АФК), которые, в свою очередь, способны вызывать перекисное окисление мембранных липидов и окислительный стресс в клетках опухоли. Известно, что комплексообразование хинонов-хелаторов с ионами металлов усиливает генерацию свободных радикалов. Кроме того, генерация свободных радикалов в клетках кардиомиоцитов является причиной высокой кардиотоксичности антрациклиновых антибиотиков.

Данная работа посвящена исследованию влияния новых хинонов, демонстрирующих высокую цитотоксичность, на скорость перекисного окисления липидов. В качестве модельной системы рассматривали перекисное окисление в мицеллах линолевой кислоты, для которой процесс генерации АФК хорошо описан. Исследования проводились методом ЯМР спектроскопии. Структуры исследуемых хелаторов приведены на Рис. 1.

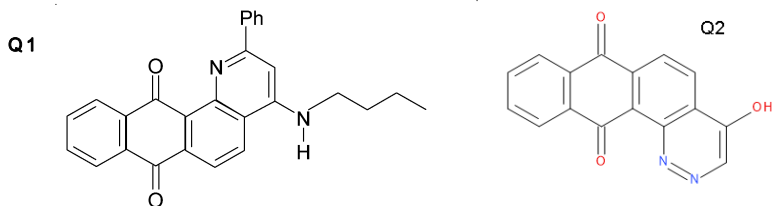


Рисунок 1. Структуры исследуемых хинонов-хелаторов

Показано, что хиноны способны встраиваться внутрь мицелл линолевой кислоты. Обнаружено, что комплексы хинонов-хелаторов с ионами металлов проявляют редокс-активность в реакции перекисного окисления линолевой кислоты. Кроме того, установлено что аскорбиновая кислота способна ускорять реакцию перекисного окисления линолевой кислоты с участием комплексов хинона Q1 с ионами меди.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект №21-73-10037

4.26. РАЗРАБОТКА ИНСТРУМЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СУБКЛЕТОЧНОЙ ДИНАМИКИ ГИПОГАЛОГЕННОГО СТРЕССА

Чебаненко В.В.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
vvchebanenko@yandex.ru

Гипогалогенные кислоты, продуцируемые клетками врожденного иммунитета, являются сильными окислителями, высокоэффективными в борьбе с патогенами. Однако их чрезмерная выработка приводит к развитию окислительного стресса в тканях организма. Показано, что этот факт играет важную роль в патогенезе болезней, ассоциированных с хроническим воспалением. Известно, что разнообразные субклеточные эффекты стресса обусловлены избирательным воздействием окислителей на определенные органеллы, однако точные механизмы остаются неясными. Для дальнейших исследований необходимо разработать новые подходы. Идеальный инструмент должен легко доставляться в клетку, а также обладать низкой цитотоксичностью, возможностью направленной экспрессии, высокими чувствительностью и селективностью.

Этими характеристиками обладают генетически кодируемые биосенсоры гипогалогенных кислот - флуоресцентные химерные белки семейства Nurocrates, разработанные в группе метаболических основ патологии Института биоорганической химии РАН.

В настоящей работе мы разработали палитру генетических конструкций для направленной экспрессии биосенсора в определенных регионах клетки. К интересующим нас компартаментам относятся: **цитоплазматическая мембрана, цитозоль, ядро**, матрикс и межмембранное пространство **митохондрий** и полость **ЭПР**.

Правильная локализация и функциональность химерных конструкций была проверена путем их экспрессии в линиях эукариотических клеток с последующей инкубацией в присутствии гипогалогенных кислот. Было обнаружено, что конструкция с ЭПР-экспрессией подвергается гликозилированию, а также олигомеризуется под воздействием окисляющей среды компартамента. Сенсор был успешно адаптирован для экспрессии в ЭПР путем дополнительных модификаций.

Важно отметить, что микроокружение хромофора биосенсора чувствительно к pH, что может служить источником артефактов при регистрации гипогалогенного стресса. Поэтому параллельно мы предприняли попытки получить pH-нечувствительную версию сенсора. В ходе экспериментов нами была получена мутантная версия, обладающая в 1,7 раз более высокой величиной ответа на гипохлорит *in vitro*, чем контрольный образец. Было установлено, что внесенные мутации не оказали влияния на чувствительность к основным агентам гипогалогенного стресса (NaOCl, NaOBr, N-Cl-таурин) и селективность (сенсор не реагирует на другие окислители).

Таким образом, полученная версия Nurocrates обладает большей амплитудой ответа и на её базе будут продолжены поиски pH-нечувствительного варианта сенсора.

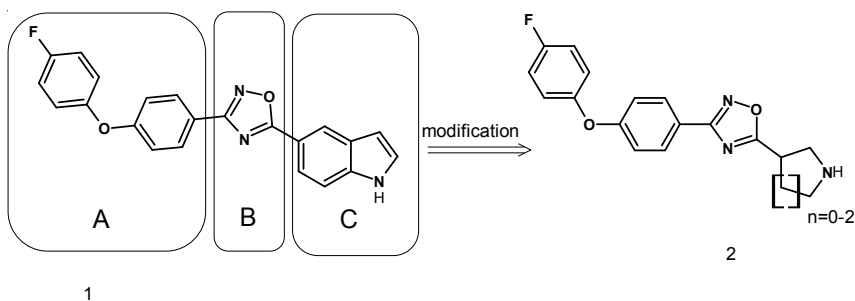
СЕКЦИЯ 5 МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УЗНАВАНИЯ БИМОЛЕКУЛ И ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛОВ В КЛЕТКЕ

5.1. СИНТЕЗ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 1,2,4-ОКСАДИАЗОЛА И ИХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ

Виноградова Л.В., Комарова К.Ю., Лукин А.Ю.

МИРЭА - Российский технологический университет, Москва
vlv010599@yandex.ru

Противомикробные препараты играют важную роль в современной медицине: их применение привело к снижению смертности и увеличению продолжительности жизни, их значение в травматологии, химиотерапии бактериальных инфекций, хирургии и т.д. в настоящий момент трудно переоценить. Однако резистентность к доступным антибиотикам у патогенных бактерий представляет собой глобальную проблему, поскольку число штаммов с множественной лекарственной устойчивостью резко увеличивается с каждым годом и распространяется по всему миру. Таким образом, разработка новых антибактериальных агентов, как с повышенной эффективностью, так и с новыми или измененными механизмами действия является актуальной и важной задачей современной медицинской химии. Недавно было показано [1], что производные 1,2,4-оксадиазолов являются новым перспективным классом антибактериальных препаратов (схема 1, соединение 1). Нами был предложен дизайн и осуществлен синтез ряда соединений, в которых фрагмент индола в исходной молекуле был заменен на основные фрагменты циклических аминов общей формулой 2.



Антибактериальная активность в отношении бактерии ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.*) изучается.

Литература

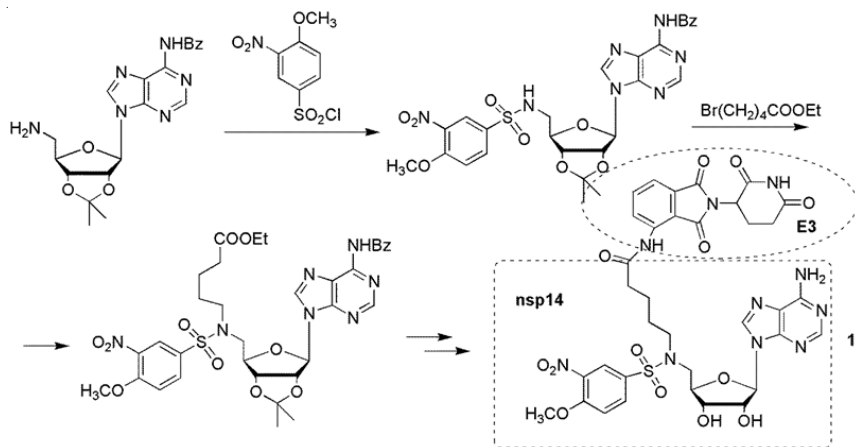
1. Marc A. Boudreau, Derong Ding, Jayda E. Meisel, Jeshina Janardhanan., et al. Structure-Activity Relationship for the Oxadiazole Class of Antibacterials. ACS Med Chem Lett. 2020; 11(3): 322-326. 10.1021/acsmchemlett.9b00379.

5.2. СИНТЕЗ ЛИГАНДА ДЛЯ ТАРГЕТИРОВАННОЙ ДЕГРАДАЦИИ SARS CoV-2 nsp14

Захарова М.А., Чудинов М.В.

МИРЭА - Российских технологический университет, Москва
matildafox@mail.ru

Технология таргетированной деградации белков (Protac[©]) основана на получении химерных молекул, состоящих из 2 лигандов к различным биомишеням: к элементу протеасомного комплекса лигазе E3 и к целевому белку. Лиганды связаны между собой спейсером. В результате действия такой химерной молекулы целевой белок метится лигазой E3 как мишень протеасомного комплекса клетки и далее разрушается протеасомой. Эта новая технология уже зарекомендовала себя при создании противоопухолевых препаратов, однако в борьбе с вирусами её применение только начинается [1]. На основе недавно разработанных ингибиторов неспецифического белка nsp-14 вируса SARS-CoV2 [2] мы синтезировали химерное соединение 1, потенциально пригодное для использования в технологии Protac для борьбы с SARS-CoV2 (Схема1).



Структура соединения 1 подтверждена методами физико-химического анализа, противовирусная активность в отношении вируса SARS-CoV2 изучается.

Литература

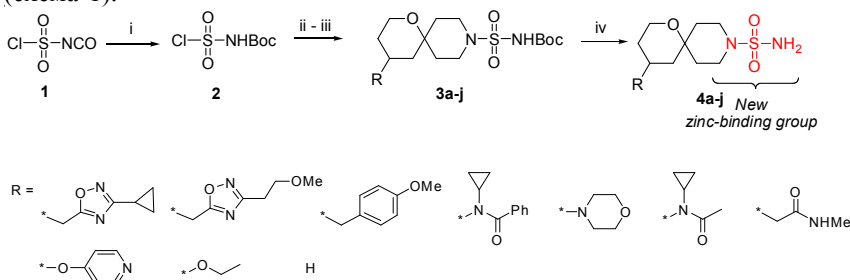
1. Desantis J., Goracci L. Proteolysis targeting chimeras in antiviral research. *Future Med Chem.* 2022;14(7):459-62. doi: 10.4155/fmc-2022-0005.
2. Ahmed-Belkacem R., Hausdorff M., Delpal A., Sutto-Ortiz P., Colmant A.M.G., Touret F., et al. Potent Inhibition of SARS-CoV-2 nsp14 N7-Methyltransferase by Sulfonamide-Based Bisubstrate Analogues. *J Med Chem.* 2022;65(8):6231-49. doi: 10.1021/acs.jmedchem.2c00120.

5.3. СИНТЕЗ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ КАРБОАНГИДРАЗ (CAs), СОДЕРЖАЩИХ СПИРОЦИКЛИЧЕСКИЙ ФРАГМЕНТ

Комарова К.Ю., Виноградова Л.В., Лукин А.Ю.

МИРЭА - Российский технологический университет, Москва
kristinka-komarova.1999@mail.ru

Карбоангидразы (CAs) - большая семья металлоферментов цинка, которые катализируют обратимую гидратацию диоксида углерода [1]. Гиперктивность различных изоформ карбоангидразы связана с развитием ряда заболеваний, таких как глаукома, отек, ожирение, невропатическая боль и рак [2], что делает их терапевтической мишенью для лечения данных заболеваний. Изоморфная селективность является одним из важнейших факторов при создании ингибиторов CAs. Нами было предложено, что спироциклический фрагмент 9-азаспиро[5.5]-ундекана, с выраженной трехмерностью молекулярного остова по сравнению с известными плоскими ароматическими молекулами известных ингибиторов CAs, может обеспечить избирательность действия по отношению к различным изоформам фермента (схема 1).



Структура соединений **4a-j** подтверждена методами физико-химического анализа, активность к различным изоформам карбоангидразы (CAs) изучается.

Литература

1. S. Pastorekova, S. Parkkila, J. Pastorek, C. T. Supuran, J. Enzyme Inhib. Med. Chem. 2004, 19, 199-229.
2. V. Alterio, Di Fiore, K. D'Ambrosio, C. T. Supuran, G. De Simone, Chem. Rev. 2012, 112, 4421-4468.

5.4. КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ПРОТЕОМИКА МЕМБРАННОЙ ФРАКЦИИ КЛЕТОК ПЕРВИЧНОЙ ЛИНИИ ГЛИОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА

Майоров В.А.^{1,2}

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
nemo23@lenta.ru

Глиобластома является одной из наиболее агрессивных форм рака мозга и характеризуется высокой скоростью пролиферации и инвазии, вследствие чего плохо поддается хирургическому лечению. Этот факт обуславливает стабильно высокий интерес исследователей к механизмам регуляции инвазии и пролиферации клеток данного типа опухолей. Особый интерес вызывают регуляторные пути, в которые вовлечены белки плазматической мембраны клетки. К таким путям относятся кальциевый сигналинг и взаимодействие клеток глиобластомы с внеклеточным матриксом. Несмотря на имеющийся на сегодняшний день значительный объем информации об этих процессах, должное внимание не уделено вопросу о роли н-холинорецепторов в пролиферации и инвазии клеток глиобластомы и механизме их влияния. Ряд научных работ посвящён взаимодействию н-холинорецепторов с отдельными мембранными белками, участвующими в процессах инвазии и пролиферации опухолевых клеток, однако в настоящее время не сформировано более или менее целостной картины, отражающей все пути влияния данной группы белков на эти процессы. В данной работе было проведено протеомное исследование тотального мембранного лизата клеток глиобластомы линии U87, культивированных на средах с различными комбинациями лигандов н-холинорецепторов: α -кобротоксина, PNU-28 и PNU-12. Исследование включало в себя выделение тотального мембранного лизата из исследуемой культуры клеток, делипидизацию и трипсинолиз белков, очистку полученных триптических пептидов и их масс-спектрометрический анализ (nanoLC-MS/MS). По полученным данным была произведена идентификация мембранных белков в каждом образце. В дальнейшем планируется провести количественный анализ содержания обнаруженных белков, включающий в себя определение относительного содержания в образцах каждого из обнаруженных белков по сравнению его содержанием в контрольных образцах, культивированных на среде без лигандов н-холинорецепторов (label-free quantification), а также определение абсолютного содержания интересующих нас белков методом внутреннего стандарта с использованием изотопно-меченых пептидов.

5.5. ДЕТЕКЦИЯ МАРКЕРА CD133 В ГЛИОБЛАСТОМЕ ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ АПТАМЕРОВ

Моисеенко В.Л., Антипова О.М., Копылов А.М.

МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

valerian.moiseenko@gmail.com

CD133 или промнин-1 - это гликопротеин, состоящий из 865 аминокислотных остатков, с двумя внеклеточными петлями и пятью трансмембранными α -спиралями. Белок CD133 экспрессируется в нормальных и опухолевых клетках различных тканей. Считается, что CD133 является маркером опухолевых стволовых клеток в глиобластоме (ГБ). Для детекции CD133 на поверхности клеток используются антитела. В литературе описано несколько ДНК и РНК аптамеров к CD133 [1, 2]. Используемые в работе A15 и B19 являются РНК-аптамерами, в которых все пиримидиновые нуклеотиды содержат фтор в 2'-положении сахара, а Cs-5 - ДНК-аптамером.

Для сравнения эффективности узнавания CD133 на поверхности клеток использовали меченное APC антитело анти-CD133 (эпитоп CD133/2), а также аптамеры A15, B19 и Cs5, меченные Cy5 и FAM. Детекцию CD133 проводили на линейных CD133+ клетках колоректального рака Caco2, для которых показано взаимодействие с антителами к CD133 [3], и клетках первичной культуры глиобластомы человека G01. Методом проточной цитометрии показано, что аптамеры лучше связываются с CD133+ клетками, чем антитела. Сдвиг интенсивности флуоресценции для меченных аптамеров превосходит сдвиг интенсивности, полученный для антитела. При этом результаты для A15 и B19 практически совпадают. Методом конфокальной микроскопии продемонстрирована возможность окрашивания клеток мечеными РНК и ДНК-аптамерами.

Как РНК, так и ДНК-аптамеры связываются с CD133+ клетками, не связываются с CD133- клетками, эффективнее узнают CD133 на поверхности клеток, чем антитело CD133/2 и позволяют детектировать CD133 не только на клетках линейных культур, но и на клетках пациентов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Минобрнауки России "Развитие биоресурсной коллекции опухолей нервной системы человека с молекулярно-генетической паспортизацией для персонализированного лечения пациентов с нейроонкологическими заболеваниями" № 075-15-2021-1343 от 4 октября 2021 года.

Литература

1. Shigdar S et al., RNA aptamers targeting cancer stem cell marker CD133. *Cancer Lett.* 2013 Mar 1;330(1):84-95.
2. Wenjing Li1 et al., Selection of CD133-targeted DNA aptamers for the efficient and specific therapy of colorectal cancer, *J. Mater. Chem. B*, 2022,10, 2057-2066.
3. Zhang, Min et al., CD133 Affects the Invasive Ability of HCT116 Cells by Regulating TIMP-2. *The American Journal of Pathology*, 2013, 182(2), 565-576.

5.6. РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ЭНДОГЕННЫХ КАЛЬЦИЙ-АКТИВИРУЕМЫХ ХЛОРНЫХ КАНАЛОВ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМЫМ ВХОДОМ КАЛЬЦИЯ В НЕК293

Номеровская М.А., Шалыгин А.В., Казначеева Е.В., Колесников Д.О.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург
lukjanenok_maria@mail.ru

Кальций-активируемые хлорные каналы (CaCC) представлены следующими семействами: аноктамины, бестрофины, CLCA. Представители семейства аноктаминов экспрессируются во многих тканях организма, где выполняют важные функции. Часть из них формируют ионные каналы, а часть являются скрамблазами. Установлена физиологическая значимость этих белков для свертывания крови, внешней секреция, регуляции жизненного цикла клетки и для других процессов. Разнообразие их функций особенно заметно в патогенезе тяжелого течения COVID-19, где развитие тромбозов, образование синцития легочной ткани, нарушение обоняние является следствием гиперфункции аноктамина-6. Интересно, что этот белок совмещает функции ионного канала и скрамблазы и может стать потенциальной терапевтической мишенью для лечения тяжелых форм COVID-19 и других патологий. Ранее в нашей лаборатории в клетках НЕК293 были описаны токи через эндогенные CaCC, электрофизиологические свойства которых схожи с аноктамином-6.

Одним из основных источников кальция в электронеовозбудимых клетках является депо-управляемый вход. В недавних работах была установлена колокализация аноктаминов и депо-управляемых каналов, однако их функциональное сопряжение изучено недостаточно.

Наше исследование посвящено изучению регуляции активности эндогенных CaCC в клетках НЕК293 при опустошении депо, а также описанию взаимного влияния депо-управляемых каналов и CaCC. Для этих целей изучались токи через ионные каналы методом локальной фиксации потенциала. В ходе исследования мы применяли модуляторы активности депо-управляемых каналов и CaCC и мутантные белки, формирующие депо-управляемые каналы.

Мы обнаружили функциональное сопряжение CaCC и депо-управляемых каналов, а также изучили их электрофизиологические свойства в данных условиях.

Работа была поддержана грантом РФФ-22-24-00761.

СЕКЦИЯ 6

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТочНЫЕ ОСНОВЫ ИММУНИТЕТА

6.1. ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ АДАПТИВНЫХ НК-КЛЕТОК CD57-

Алексеева Н.А.^{1,2}, Паламарчук А.И.^{1,2}, Стрельцова М.А.¹, Коваленко Е.И.¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
nadalex@inbox.ru

Цитотоксичность НК-клеток в отношении опухолевых и зараженных вирусом клеток делает возможным их применение в иммунотерапии. Однако, НК-клетки отличаются значительной фенотипической и функциональной неоднородностью. В частности, НК-клетки, экспрессирующие ингибирующие рецепторы KIR, приобретают дополнительную функциональную активность. С цитомегаловирусной инфекцией (HCMV) ассоциировано формирование популяции адаптивных клеток CD57⁺NKG2C⁺, их активно пролиферирующие предшественники - CD57⁺NKG2C⁺CD56^{dim}.

Данная работа выполнялась с целью исследовать взаимосвязь между пролиферативной активностью CD57-НК-клеток и экспрессией в них рецепторов NKG2C и KIR при экспансии *in vitro*. НК-клетки были получены методом магнитной сепарации из мононуклеаров периферической крови здоровых добровольцев, у которых методом иммуноферментного анализа был определен серологический статус HCMV. Анализ фенотипа клеток проводили методом цитофлуориметрии. С помощью клеточного сортировщика выполняли сортировку по 1, 100 и 25 000 клеток в 96-луночные планшеты субпопуляций НК-клеток, различающихся по наличию на их поверхности рецепторов NKG2C и KIR2DL2/DL3. Клетки подвергали стимуляции IL-2 и фидерными клетками K562-mbIL21. В гетерогенных культурах НК-клеток NKG2C^{+/-} KIR2DL2/DL3^{+/-}, полученных из 25 000 клеток, не наблюдалось значимых различий по уровню экспансии через 7 дней. При этом, большая частота возникновения клональных культур наблюдалась в субпопуляциях НК-клеток KIR2DL2/DL3⁻, а больший размер клонов - в KIR2DL2/DL3⁺NKG2C⁺. Большая частота возникновения клонов KIR2DL2/DL3⁻ могла быть следствием большей чувствительности к IL-2 клеток CD56^{bright}, которых в этих субпопуляциях больше, чем в субпопуляциях KIR2DL2/DL3⁺. Чтобы оценить пролиферативную активность субпопуляций CD56^{bright} NKG2C^{+/-} KIR2DL2/DL3^{+/-}, были получены культуры этих субпопуляций из 100 НК-клеток. Среди этих культур на первых этапах лучше пролиферировали субпопуляции KIR2DL2/DL3⁻, затем - KIR⁺. Таким образом, данные свидетельствуют о том, что клетки CD56^{bright} сначала вносят ощутимый вклад в экспансию культур KIR2DL2/DL3⁻, но в дальнейшем клетки KIR2DL2/DL3⁺ пролиферируют более активно за счет увеличения вклада отдельных крупных клонов. Расширение знаний о потенциальных предшественниках адаптивных НК-клеток важно для применения НК-клеток в иммунотерапии рака.

Данная работа поддержана грантом РФФ №19-15-00439.

6.2. ИНВАЗИЯ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ РОДА *Serratia* В ЭПИТЕЛИОПОДОБНЫЕ ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ ПРИВОДИТ К ВЫРАБОТКЕ ИМИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ

Берсон Ю.М.^{1,2}, Горбунов Н.П.², Цаплина О.А.¹

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

²Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург
juletschka.ber@gmail.com

Все чаще среди возбудителей внутрибольничных инфекций обнаруживают бактерии рода *Serratia*, в частности, *S. grimesii* и *S. proteamaculans*. Известно, что данные бактерии способны к инвазии - проникновению в нефагоцитирующие эукариотические клетки [Tsaplina et al., 2009; Vozhokina et al., 2009], позволяя бактериям избегать губительного действия антибиотиков и защитных реакций иммунной системы человека и животных.

Важную роль в защитных механизмах эпителиальных клеток играют цитокины, в частности, провоспалительные цитокины интерлейкин-6 (ИЛ-6) и интерлейкин-8 (ИЛ-8), которые способствуют привлечению эффекторных клеток иммунной системы в очаг воспаления, отвечающих за распознавание и элиминацию микроорганизмов.

Цель работы состояла в сравнении уровня секреции ИЛ-8 клетками аденокарциномы ободочной кишки человека Caco-2 и карциномы шейки матки человека М-HeLa в ответ на заражение и инвазию бактерий *S. proteamaculans* и *S. grimesii*. В качестве положительного контроля использовали интерлейкин-1β (ИЛ-1β), который стимулирует секрецию провоспалительных цитокинов. Количества продуцируемых интерлейкинов в образцах культуральной жидкости определяли с помощью иммуноферментного анализа.

В ответ на инвазию исследуемыми бактериями клетки М-HeLa вырабатывали в 2-3 раза больше ИЛ-8, чем в ответ на ИЛ-1β. Противоположный эффект наблюдался для клеток Caco-2, что можно объяснить их происхождением - клетки кишечника обладают более слабой реакцией в отношении бактериальных факторов (например, липополисахаридов), поэтому ответ на исследуемые бактерии был в 3 раза меньше, чем на ИЛ-1β. При этом для обеих клеточных линий было характерно, что продукция ИЛ-8 в ответ на инвазию *S. grimesii* была несколько выше, чем для *S. proteamaculans*.

Различия в продукции ИЛ-8 клетками карциномы могут быть связаны с секретией серрализина исследуемыми бактериями в среду [Tsaplina et al., 2015; Y. Kida et al., 2007] или притоком ионов Ca²⁺ в эпителиальные клетки [Figueiredo et al., 2009]. Мы показали, что в ходе инкубации обоих видов бактерий с клетками М-HeLa серрализин в среде не детектируется. При этом *S. grimesii* вызывают более сильный приток ионов Ca²⁺ в зараженные клетки, чем *S. proteamaculans*.

Таким образом, *S. grimesii* способны вызывать более выраженную защитную реакцию эпителиальных клеток, чем *S. proteamaculans*.

6.3. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ DEAF1 И SAYP НА ИММУННЫЙ ОТВЕТ У *Drosophila melanogaster*

Гасса М.^{1,2,3}, Степанов Н.Г.^{1,4}, Артемова В.Д.^{1,4}, Качаев З.М.¹,
Шидловский Ю.В.^{1,4}

¹Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

²МИРЭА - Российский технологический университет, Москва, Россия

³Дамасский университет, Дамаск, Сирия

⁴Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

nanaghassa783@gmail.com

Плодовая мушка *Drosophila melanogaster* успешно используется в качестве модельного организма для изучения различных процессов, включая иммунный ответ. У дрозофилы гуморальный врожденный иммунный ответ характеризуется экспрессией антимикробных пептидов (AMPs). Экспрессия генов AMPs контролируется эволюционно консервативными сигнальными путями Toll и IMD. Анализ механизмов активации генов-мишеней путей Toll и IMD с участием потенциально новых транскрипционных факторов является актуальным для всех эукариот, в том числе и для организма человека.

Целью настоящего исследования является изучение влияния факторов транскрипции DEAF1 и SAYP на иммунный ответ у *Drosophila melanogaster*. Мы разработали модельную систему активации сигнальных путей Toll и IMD в клеточной линии *D. melanogaster* - Schneider (S2) с помощью грамположительных и грамотрицательных бактерий соответственно. Используя эту модельную систему, мы изучаем роль транскрипционных факторов DEAF1 и SAYP в активации гуморального иммунного ответа. Мы осуществляем нокдауны *DEAF1* и *SAYP* с помощью РНК-интерференции и измеряем активацию генов-мишеней указанных путей. Привлечение изучаемых факторов на хроматин изучается с помощью метода иммунопреципитации хроматина. Наши результаты демонстрируют участие DEAF1 и SAYP в экспрессии некоторых генов AMPs после активации путей Toll и IMD. Более того, наши результаты указывают на вероятную кооперацию DEAF1 и SAYP на некоторых генах AMPs. Эти данные подтверждаются непосредственным взаимодействием белков DEAF1 с SAYP, что было показано нами с помощью метода иммунопреципитации белков. Данная работа позволит выяснить новые молекулярные детали сигнальных путей, лежащих в основе врожденного иммунитета.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 23-24-00567.

6.4. ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ПОВЫШЕНИЯ ВЫЖИВАЕМОСТИ АКВАКУЛЬТУРЫ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ШТАММА *Lactobacillus brevis* 47f ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА

Гришина Е.В.^{1,2}, Ватлин А.А.², Кочетков Н.И.³, Даниленко В.Н.²

¹Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

³МГУТУ им. К.Г. Разумовского (ПКУ), Москва

grishina.e@phystech.edu

Применение пробиотиков имеет различные преимущества в аквакультурном производстве, так как они улучшают показатели роста, усвояемость корма, повышают иммунную защиту от патогенов, устойчивость к болезням и повышают стрессоустойчивость. Многочисленные штаммы молочнокислых бактерий используются в качестве пробиотиков в аквакультуре из-за их благоприятного воздействия на здоровье. Иммуномодуляция, а также антиоксидантные свойства, являются причинами, по которым изучение лактобацилл особенно актуально в качестве кормовой добавки в аквакультурном производстве. В данной работе проводилось изучение иммуномодулирующих свойств штамма лактобактерий *Lactobacillus brevis* 47f (RU2617946C1), который был выделен в лаборатории генетики микроорганизмов Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН из организма здорового взрослого человека - жителя центрально-европейской части РФ, показывающий противовоспалительные свойства на мышинной модели острого мукозита и ассоциированного окислительного стресса, вызванного противоопухолевым препаратом 5-Фторурацил, с использованием модельного организма *Danio rerio* (zebrafish). Для изучения иммуномодулирующих свойств была использована тест система, в которой проверялась выживаемость *Danio rerio* при воздействии инсектицида Имидаклоприд (IMI), вызывающего повреждение кишечного барьера, окислительный стресс и воспалительный ответ. Выживаемость при добавлении в корм *L.brevis* 47f увеличивается на 40%. С целью изучения клеточного ответа иммунитета кишечника *Danio rerio* нами был проведен анализ экспрессии генов про-противовоспалительных цитокинов рыбы *Danio rerio* в присутствии штамма *L.brevis* 47f. Было обнаружено значимое изменение экспрессии провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8 и противовоспалительного IL-10. На основании полученных данных можно сделать предположение, что данный штамм активирует иммунную систему рыбы *Danio rerio* через ряд сигнальных путей.

6.5. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПЕПТИДА C3f СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ

Егорова Е.В.^{1,2}, Берлов М.Н.¹, Крнев И.А.¹, Позолотин В.А.^{1,2},
Хайдукова М.М.^{1,2}

¹Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
egorova.ekaterina@internet.ru

Введение. Система комплемента играет ключевую роль в защите от патогенов. Пептид C3f - продукт расщепления компонента комплемента C3b. Ранее для C3f была описана умеренная антимикробная активность. Молекула C3f содержит 2 остатка гистидина, которые могут протонироваться в зависимости от pH и связывать ионы металлов.

Цель. Исследование антимикробной активности пептида C3f в различных условиях.

Материалы и методы. Пептид C3f был получен методом твердофазного синтеза. Оценку антимикробной активности проводили путем подсчета колоний. Влияние pH изучали на *L. monocytogenes* и *M. luteus* с использованием 0,01 М Na-фосфатного буфера с pH 5,0; 6,0; 7,5; 8,0; конечные концентрации C3f составили 16-64 мкМ. Влияние Zn²⁺, Cu²⁺, Fe³⁺ и 0,15 М NaCl изучали на *L. monocytogenes* с использованием 0,01 М трис-HCl pH 7,4, конечные концентрации пептида C3f 1-32 мкМ. Концентрации CuSO₄, FeCl₃ превышали концентрации C3f в 1,2 раза и ZnCl₂ превышали в 1,2; 4 или 8 раз. Оценку проницаемости мембран проводили на *E. coli* ML-35p с использованием 5 мМ вероналового буфера pH 7,4 и прибора POLARstar® Omega (BMG LABTECH, Germany).

Результаты. Zn²⁺, Cu²⁺, Fe³⁺ не обладали антимикробной активностью против *L. monocytogenes*. Zn²⁺ усиливал антимикробное действие C3f. Выживаемость составила 44% от контроля (p < 0,01 по сравнению с пробами без Zn²⁺) при 4 мкМ, 26% (p < 0,001) при 8 мкМ, 4% (p < 0,05) при 16 мкМ. Cu²⁺ и Fe³⁺ не повышали антимикробную активность C3f. Антимикробная активность C3f пропадала в 0,15 М NaCl. Против *L. monocytogenes* C3f обладал наибольшей антимикробной активностью при pH 7,5: выживаемость 4%, при pH 5,0 - 100% (p < 0,001 по сравнению с pH 7,5), pH 6,0 - 10%, pH 8,0 - 15%. Против *M. luteus* C3f обладал наибольшей антимикробной активностью при pH 6,0: при 16 мкМ выживаемость 20% (p < 0,001). При pH 7,5 выживаемость повышалась. При pH 8,0: при 16 мкМ выживаемость 86%, 32 мкМ - 69% (p < 0,001), 64 мкМ - 49% (p < 0,001). В присутствии нативной сыворотки 8-32 мкМ C3f увеличивал проницаемость внешней и внутренней мембран *E. coli*.

Выводы. Zn²⁺, в отличие от Cu²⁺, Fe³⁺ повышал антимикробную активность C3f. Антимикробная активность C3f пропадала в присутствии 0,15 М NaCl. В отношении *L. monocytogenes* C3f обладал наибольшей антимикробной активностью при pH 7,5, но не действовал при pH 5,0. Закисление среды усиливало антимикробную активность C3f против *M. luteus*. C3f приводил к росту проницаемости мембран *E. coli* в присутствии сыворотки.

6.6. НЕКАНОНИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ В-КЛЕТОК

*Жеремян Э.А.^{1,2}, Устюгова А.С.¹, Радько А.И.³, Курраш Д.В.^{1,2,3},
Корнеев К.В.^{1,4}*

¹Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

³Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

⁴НМИЦ гематологии МЗ РФ, Москва

elyazheremyan@mail.ru

Расширение знаний о механизмах регуляции противовоспалительных функций В-лимфоцитов крайне важно, поскольку их участие показано во многих заболеваниях, в том числе аутоиммунных, онкологических и инфекционных. Не так давно был описан репертуар молекулярных механизмов В-клеточной иммуносупрессии. Функциональность регуляторных В-клеток (В-реггов) определяют как растворимые факторы, так и мембранные молекулы.

В данном исследовании были выдвинуты гипотезы о возможном существовании новых, ранее не исследованных механизмов иммуносупрессии, осуществляемых основными субпопуляциями В-реггов периферической крови человека. В ходе последовательного анализа открытых транскриптомных данных было отобрано и проанализировано шесть кандидатных генов, которые могут определять иммуносупрессивную активность CD27⁺ и CD38⁺ субпопуляций В-реггов.

Наши результаты позволяют предложить следующие неканонические механизмы функционирования В-реггов. Аденозин, связываясь со своим рецептором ADORA2B на поверхности В-реггов, может способствовать секреции противовоспалительного цитокина IL10 и хемокинов, привлекающих другие клетки-супрессоры. В-реги могут подавлять активность Т-клеток и способствовать пролиферации раковых клеток за счет контактных взаимодействий SLAMF7-SLAMF7, а также путем продукции sSLAMF7 - растворимой формы этого стимуляторного рецептора. Оксидаза IL4I1, синтезируемая В-регами, может препятствовать пролиферации Т-клеток, подавлять секрецию провоспалительных цитокинов и образовывать H₂O₂, который способствует деградации TCR и приобретению супрессивного фенотипа Т-клетками. В-реги могут препятствовать пролиферации Т-клеток за счет сигналинга через ингибирующий рецептор SIRPA. Секретируемый В-регами ингибитор цистеиновых протеаз цистатин F может нарушать цитотоксическую активность Т- и НК-клеток. Можно также предположить подавление производства IFN γ НК-клетками за счет продукции В-регами растворимой формы белка NID1 - лиганда ингибирующего рецептора NKp44.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-74-00106.

6.7. ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ IL6 И IL11 В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПРИ НЕЙРОВОСПАЛЕНИИ

Игнатова П.Д.¹, Ереско С.О.^{2,3}, Айрапетов М.И.^{1,2}

¹Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет МЗ РФ, Санкт-Петербург

²Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

³Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет МЗ РФ, Санкт-Петербург
ignatova.polly@yandex.ru

Актуальность. По данным литературных источников цитокины семейства IL6 вносят изменения в механизмы развития таких заболеваний, как рассеянный склероз, аутоиммунный энцефаломиелит и ишемия головного мозга. Повышение экспрессии гена IL6 чаще всего служит признаком развития нейровоспалительного процесса, тогда как роль другого цитокина из этого же семейства, IL11, на данный момент не изучена.

Цель. Оценка влияния длительной алкоголизации на относительное содержание мРНК IL6 и IL11 в головном мозге у крыс в период отмены алкоголя.

Материалы и методы. Работа выполнена на крысах-самцах линии Вистар (n=24, в группе по 8 крыс). Моделирование алкоголизации осуществлялось посредством внутрижелудочного введения 20%-го раствора этанола (2 г/кг) на протяжении 2 мес. По окончании эксперимента на 10-е сут. отмены алкоголя забирались образцы структур головного мозга: гиппокамп (HIP), прилежащее ядро (NAc), миндалина (AMY). Контрольная группа животных получала эквивалентный объем воды внутрижелудочно. Была получена суммарная РНК, выполнены ОТ-PCR. Данные были статистически обработаны. В качестве статистического критерия достоверности использовали t-критерий Стьюдента.

Результаты. Результаты эксперимента показали, что длительная алкоголизация привела к снижению уровня мРНК IL11 в NAc (в 3,86 раза, $p \leq 0.05$) и HIP (в 7,94 раза, $p \leq 0.05$) мозга крыс в период отмены алкоголя, при этом уровень мРНК IL11 в AMY 3,56 раза ($p \leq 0.05$). Длительная алкоголизация привела к снижению уровня мРНК IL6 в NAc (в 1,62 раза, $p \leq 0.05$), в HIP и AMY мозга крыс статистически значимых изменений не было обнаружено в содержании мРНК IL6.

Выводы. Длительная алкоголизация (2 мес.) привела к снижению уровня мРНК IL6, IL11 в NAc и IL11 в HIP и к повышению мРНК IL11 в AMY мозга на 10-е сут. отмены алкоголя у крыс. Данные результаты выявляют прямопропорциональную зависимость между данными цитокинами, но на данный момент нельзя достоверно определить роль IL11 в нейровоспалительных процессах головного мозга, для этого необходимо провести дальнейшие исследования.

6.8. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ОНКОЛИТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА СЕРОТИПОВ ВИРУСА ВЕЗИКУЛЯНОГО СТОМАТИТА INDIANA И NEW JERSEY

Исаева А.С.^{1,3}, Порозова Н.О.¹, Колесник В.В.^{1,3}, Володина С.И.¹,
Малоголовкин А.С.^{1,2}

¹Институт медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского, Первый МГМУ имени И.М. Сеченова МЗ РФ (Сеченовский университет), Москва

²Университет "Сириус", п. Сириус

³Московский физико-технический институт (НИУ), Москва
isaeva.as@phystech.edu

Онколитические вирусы (ОВ) стали многообещающим методом лечения опухолей, поскольку они способны избирательно инфицировать и уничтожать раковые клетки, инициировать высвобождение ассоциированных с опухолью антигенов, запускать противораковый иммунитет и активировать рекрутирование иммунных клеток в микроокружение опухоли. После одобрения FDA первого препарата на основе рекомбинантного герпесвируса первого типа для лечения меланомы интерес к данному направлению исследований сильно вырос. На сегодняшний день ряд онколитических вирусов тестируются в клинических испытаниях, среди которых герпесвирус, аденовирус, вирус везикулярного стоматита (VSV) и др. VSV обладает рядом преимуществ по сравнению с другими ОВ, включая отсутствие ранее существовавшего иммунитета у людей, репликацию в цитоплазме без риска трансформации клетки-хозяина, способность инфицировать широкий спектр лабораторных клеточных линий, относительную независимость от рецептора или клеточного цикла. Выделяют два серотипа VSV: Indiana и New Jersey, которые являются объектом эпидемиологических, *in vitro* и *in vivo* исследований. Несмотря на относительно высокую идентичность геномов обоих серотипов VSV, литературные данные свидетельствуют о разной степени их агрессивности на *in vivo* моделях. Мы предположили, что VSV Indiana проявляет более выраженный цитотоксический эффект в сравнении с VSV New Jersey.

Целью данной работы являлось проведение сравнительного анализа онколитического потенциала *in vitro* двух серотипов VSV. С применением методов определения титров вируса, МТТ-теста, qPCR был выявлен наиболее онколитически активный кандидат. Данные результаты могут быть использованы для дальнейших исследований VSV в терапии онкологических заболеваний. Работа выполнена при финансовой поддержке программы академического лидерства "Приоритет 2030" ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

6.9. АНАЛИЗ РЕПЕРТУАРА Т-КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ С НЕВРОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Квичанский А.А.¹, Ивлева А.И.², Аверченков Д.М.³, Ковальчук М.О.³, Григорьева Т.В.², Брылев Л.В.^{1,3,4}, Большаков А.П.¹, Мамедов И.З.²

¹Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

³ГКБ им. Буянова ДЗМ, Москва

⁴Научно-практический психоневрологический центр имени З.П. Соловьева ДЗМ, Москва

al.kvichans@gmail.com

Неврологические заболевания являются основной причиной инвалидности, а также второй по распространенности причиной смертности в мире. Изучение репертуара Т-клеточных рецепторов в спинномозговой жидкости может быть эффективным инструментом изучения аутоиммунных процессов в мозге, потенциально вызывающих неврологические расстройства.

Мы разработали методику получения библиотек кДНК α , β и γ , δ Т-клеточных рецепторов для высокопроизводительного секвенирования. Методика была оптимизирована для получения библиотек из образцов клеток крови (до 3 миллионов клеток) и клеток ликвора (до 5 тысяч клеток). Проводили сравнительный анализ представленности клонов Т-лимфоцитов в ликворе и периферической крови, изучение фенотипических особенностей этих Т-клеток и сравнительно-структурный анализ последовательностей Т-клеточных рецепторов. В работе были использованы образцы ликвора, общий моноцитарный пул, фракции CD4⁺ и CD8⁺ клеток, выделенных из крови. Биологический материал был получен от 4 пациентов (1 пациент с аутоиммунным энцефалитом, 1 с синдромом Гийена-Барре, 2 с боковым амиотрофическим склерозом).

У всех пациентов были выявлены клоны, специфичные для клеток ликвора. Несмотря на то, что исследование проводилось для пациентов с разными неврологическими заболеваниями, обнаружено определенное сходство характеристик репертуаров ликвора, по сравнению с периферической кровью, которое выражается в обогащении ликвора CD4⁺ $\alpha\beta$ Т-лимфоцитами, укорочении последовательности CDR3 δ -цепи $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов, а также наличии кластеров последовательностей клонов дельта цепи Т-клеточных рецепторов, представленных в ликворе.

Работа поддержана АНО "Московский центр инновационных технологий в здравоохранении", договор № 0408-1/22-1НИР. Исследование поддержано грантом Правительства г. Москвы на реализацию научно-практических проектов в области медицины № 0408-1.

6.10. СОПОСТАВЛЕНИЕ ПРОФИЛЕЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ АНТИГЛИКАНОВЫХ IgA И IgG РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ И СЫВОРОТКИ КРОВИ

Лаврентьева М.В.¹, Бовин Н.В.¹, Нокель А.Ю.^{1,2}, Шилова Н.В.^{1,2}

¹Институт биоорганической химии. им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова МЗ РФ, Москва
marina38001@mail.ru

Респираторный мукозальный иммунитет является первой линией защиты в организме от бактерий и вирусов. Основными его элементами наряду с муцинами и ферментами являются иммуноглобулины - секреторный иммуноглобулин А (sIgA), который структурно отличается от сывороточного IgA наличием т.н. секреторного компонента, и IgG, который мало представлен в ротовой жидкости, однако является лидером по содержанию в крови человека. Несмотря на то, что накоплен большой практический материал об изменениях в мукозальном иммунитете при инфекциях различных этиологий, а также использовании назальных вакцин, систематического изучения специфичности мукозальных иммуноглобулинов, в частности, к гликанам, до сих пор не проводилось, что связано с многокомпонентностью состава ротовой жидкости и наличием большого количества ферментов и микроорганизмов.

В нашей работе мы провели изучение профиля специфичности антигликановых IgA и IgG ротовой жидкости двух условно здоровых доноров и сравнили их с профилями иммуноглобулинов А и G сыворотки крови тех же индивидуумов. Исследование проводилось с помощью технологии гликоэкрена, состоящего из более 600 углеводных лигандов - гликанов млекопитающих, капсульных и O-полисахаридов патогенных и условно патогенных бактерий. Были подобраны условия проведения эксперимента, позволяющие минимизировать действие слюнных ферментов и удалить присутствующие в ротовой жидкости микроорганизмы. Первые результаты показали, что sIgA исследованных доноров распознает широкий репертуар бактериальных полисахаридов, что согласуется с литературными данными о мишенях этого типа иммуноглобулина. Преобладающими являлись сигналы к капсульным полисахаридам из *A. baumannii*. К ним же, в основном, были направлены и мукозальные IgG. Оказалось, что профили сывороточных и мукозальных иммуноглобулинов в обоих случаях значительно пересекались (например, по антителам к *A. baumannii* AB5001 K3 и KZ1098 K26), что может свидетельствовать о наличии взаимосвязи между системно (сыворотка) и местно (ротовая жидкость) вырабатываемыми IgA и IgG. Развитие данного направления позволит подробнее разобраться во взаимосвязи структурных образований лимфоидной системы, а также более направленно проводить разработку и оценку действия мукозальных вакцин.

6.11. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНТИ-Tn-АНТИТЕЛ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ И БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА

Дипатников А.Д.¹, Обухова П.С.¹, Бовин Н.В.¹, Бутылин А.А.²,
Шилова Н.В.^{1,3}

¹Институт биоорганической химии им. М.М. Шенякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва

³НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова МЗ РФ, Москва
Alex.9508@yandex.ru

Согласно исследованиям последних лет наличие в крови пациентов антител против опухолеассоциированного Tn-антигена (ключевым эпитопом которого является моносахарид GalNAc α) в составе некоторых муцинов, связано с благоприятным прогнозом при лечении рака желудка и аденокарциномы толстой кишки. Это объясняют тем, что такие иммуноглобулины могут осуществлять надзор за появлением онкотрансформированных клеток.

Для проверки этой гипотезы, из пулов сывороток крови групп А и В как здоровых доноров, так и больных раком желудка (от 20 до 45 индивидуумов) с помощью гаптен-специфической аффинной хроматографии выделены анти-Tn антитела и охарактеризованы с помощью ИФА и гликоэпроя. Оказалось, что содержание иммуноглобулинов в выделенных анти-Tn было сопоставимо, а соотношение IgG/IgM/IgA также было примерно одинаковым, с преобладанием IgM. Профили специфичности выделенных антител отличались мало, за исключением способности анти-Tn из сывороток больных раком желудка распознавать дополнительно несколько гликановых структур, содержащих GalNAc α в коре (в частности, Neu5Ac α 2-6GalNAc α , про который также известно, что он присутствует на опухолевых клетках).

Остается неясным, связан ли наблюдаемый эффект с появлением у онкопациентов новой субпопуляции анти-Tn антител, свойства которых отличаются от свойств антител в организме здоровых доноров. В то же время, известно, что реализация эффекторной функции антителами зависит от структуры гликана их Fc-региона, поэтому далее мы планируем сравнить гликозилирование GalNAc α -антител больных и здоровых людей с помощью панели растительных лектинов известной специфичности.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 22-24-00398.

6.12. РОЛЬ IL-4R И IL-5R В РАЗВИТИИ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ, ИНДУЦИРУЕМОГО У МЫШЕЙ

Мурова Е.Д., Сервули Е.А., Болховитина Е.Л., Вавилова Ю.Д., Сапожников А.М., Шевченко М.А.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
offcharge@mail.ru

Астма - хроническое заболевание дыхательных путей, в патогенезе которой принимают участие как нейтрофилы, так и эозинофилы.

Целью данного исследования является определение экспрессии рецепторов к интерлейкину 4 (IL-4R) и интерлейкину 5 (IL-5R) нейтрофилами костного мозга мышей на раннем этапе развития аллергического воспаления дыхательных путей.

Аллергическое воспаление у мышей линии CD-1 вызывали путем пяти орофарингеальных введений экстракта гриба *Aspergillus fumigatus* в дозах 3,75 мкг/мышь/введение в течение двух недель. Отбор крови осуществляли через 72 часа после каждого введения аллергена, а после последнего введения был проведен отбор костного мозга. С помощью световой микроскопии проводили оценку клеточного состава образцов крови. Оценку доли нейтрофилов и эозинофилов в костном мозге, а также экспрессию IL-4R и IL-5R проводили при помощи проточной цитометрии.

Рост количества нейтрофилов в крови наблюдали после первого введения, затем процент нейтрофилов снижался, в то время как процент эозинофилов достоверно возрастал. Количество IL-4R-экспрессирующих нейтрофилов костного мозга не превышало 50%, однако повышалось достоверно у мышей на ранних стадиях аллергического воспаления дыхательных путей по сравнению с интактными мышами. Количество IL-5R-экспрессирующих нейтрофилов превышало 50%, даже у интактных мышей. Достоверного повышения экспрессии IL-5R нейтрофилами костного мозга на ранних стадиях аллергического воспаления не наблюдалось. В случае эозинофилов костного мозга, доля IL-4R- и IL-5R-экспрессирующих клеток была менее 10% и уменьшалась (но не достоверно) в процессе развития воспаления.

Таким образом, наблюдали потенциальное повышение чувствительности нейтрофилов, но не эозинофилов костного мозга к интерлейкину 4 в процессе развития аллергического воспаления в дыхательных путях.

6.13. ХИМЕРНЫЕ БЕЛКИ БТШ70М-БАРСТАР И БАРСТАР-БТШ70М ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКИ БТШ70 К ПОВЕРХНОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Овсяникова О.В.^{1,2}, Алексеева Л.Г.², Шульга А.А.², Проценко А.Р.², Гречихина М.А.², Деев С.М.², Сапожников А.М.^{1,2}

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
Olgaovsyanicikova@yandex.ru

Ранее мы показали возможность модификации поверхности опухолевых клеток-мишеней с использованием двухкомпонентной надмолекулярной конструкции, состоящей из химерных рекомбинантных белков (модулей) 4D5 scFv-барназа и барстар- белок теплового шока с молекулярной массой 70 кДа (БТШ70). Было решено сравнить активность модулей барстар-БТШ70 и БТШ70-барстар, обеспечивающих экспонирование соответственно С-терминального или N-терминального доменов БТШ70, поскольку предполагается существенная разница в уровне активации иммунных клеток между С- и N-концевым доменом.

Для получения рекомбинантного белка БТШ70-барстар за основу была взята нуклеотидная последовательность БТШ70, кодирующая белок с мутированными сайтами гликозилирования (БТШ70m), что позволило получать белок БТШ70m в бактериальной системе в растворимой форме с высоким выходом. Полученные фрагменты были собраны в единую конструкцию His6-БТШ70m-барстар, на базе плазмидного вектора рEXPR_001 для прокариотической экспрессии в *E. coli*.

Для получения белка барстар-БТШ70m-His6 ген мутантного БТШ70m был переклонирован в плазмидный вектор рЕТ22. Полученные белки очищали с помощью металл-хелатной хроматографии. Предложенный нами подход в обоих случаях позволил получить целевые продукты в бактериальной системе экспрессии в растворимой форме с высоким выходом - 140 мг белка His6-БТШ70m-барстар и 20 мг белка барстар-БТШ70m-His6 с 200 мл культуральной среды. Оба функциональных компонента в составе химерных белков сохраняли свои биологические свойства.

Эффективность адресной доставки двухмодульной конструкции оценивали методом проточной цитометрии. В обоих случаях наблюдалась высокоспецифичная и эффективная (более 70%) доставка содержащих БТШ70m конструкций.

Таким образом, нами получена модельная система для изучения влияния пространственной ориентации белка БТШ70 на противоопухолевую активность клеток иммунной системы.

6.14. АНАЛИЗ КАТАЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ СУБФРАКЦИЙ IGG ПЛАЗМЫ КРОВИ ДОНОРОВ, ПЕРЕБОЛЕВШИХ COVID-19 И ВАКЦИНИРОВАННЫХ Sputnik V

Онвумере М.К.¹, Толмачева А.С.², Тимофеева А.М.², Седых С.Е.^{1,2}, Невинский Г.А.^{1,2}

¹Новосибирский государственный университет, Новосибирск

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

m.onvumere@g.nsu.ru

Патофизиологические процессы, протекающие при COVID-19, вызваны в том числе избыточной генерацией активированных кислородных метаболитов (АКМ). Антитела с каталазной активностью могут участвовать в регуляции АКМ, однако, на данный момент их роль в патогенезе COVID-19 не изучена.

В данной работе использованы образцы плазмы крови четырех групп доноров, сопоставимых по полу и возрасту: переболевшие COVID-19 (n=28); вакцинированные Sputnik V (n=26); вакцинированные Sputnik V после перенесенного COVID-19 (n=13); здоровые доноры (n=43). Все доноры не имели аутоиммунных патологий и хронических инфекций. Индивидуальные препараты IgG получены аффинной хроматографией на протеин G-сефарозе, подтверждена их электрофоретическая гомогенность. Для выделения κκ-IgG, λλ-IgG и κλ-IgG из препаратов каждой группы проведена аффинная хроматография на сефарозе, содержащей иммобилизованные антитела против легких цепей человека типа κ и λ. Аффинной хроматографией на S-сефарозе и RBD-сефарозе из плазмы крови переболевших и вакцинированных доноров получены препараты IgG к спайковому (S) белку SARS-CoV-2 (анти-S-IgG) и рецептор-связывающему домену (RBD) S-белка (анти-RBD-IgG). Спектрофотометрически по разложению пероксида водорода определены значения кажущихся k_{cat} характеризующие каталазную активность IgG.

Средние величины кажущихся k_{cat} реакции разложения пероксида водорода антителами κκ-IgG для исследуемых групп доноров составили (мин⁻¹): переболевшие - $0,68 \times 10^3$, вакцинированные - $0,39 \times 10^3$, переболевшие и вакцинированные - $0,23 \times 10^3$, здоровые - $0,18 \times 10^3$. Для λλ-IgG наблюдалось иное соотношение k_{cat} : здоровые - $0,53 \times 10^3$, вакцинированные - $0,46 \times 10^3$, переболевшие - $0,23 \times 10^3$, переболевшие и вакцинированные - $0,23 \times 10^3$. Величины кажущихся k_{cat} для κλ-IgG, анти-S-IgG и анти-RBD-IgG оказались близки к нулю.

Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что каталазная активность IgG крови переболевших COVID-19 и вакцинированных Sputnik V зависит от соотношения антител с κκ-, λλ- и κλ-легкими цепями. Так как значения кажущихся k_{cat} для анти-S-IgG и анти-RBD-IgG близки к нулю, можно предположить, что эти антитела вносят несущественный вклад в каталазную активность, а наблюдаемая в препаратах IgG активность не связана с COVID-19 и обусловлена антителами против других антигенов.

Исследование проведено при поддержке проекта РНФ 21-75-10105.

6.15. ВЛИЯНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНО-НАПРАВЛЕННЫХ КУРКУМИНОИДОВ НА МИТОХОНДРИИ ТУЧНЫХ КЛЕТОК

Павлюченкова А.Н.¹, Кузнецова М.К.¹, Челомбитько М.А.²

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

²НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ, Москва

anabella.gen@gmail.com

Тучные клетки являются многофункциональными иммунными клетками, вовлеченными в разнообразные процессы, как в норме, так и при патологиях. Данные клетки наиболее известны своим участием в различных IgE-ассоциированных аллергических заболеваниях, в ходе которых они активируются в основном через высокоаффинный рецептор IgE - FcεRI.

Появляется все больше доказательств того, что митохондрии и, в частности, митохондриальный STAT3, участвуют в FcεRI-зависимой (антиген-зависимой) активации тучных клеток. STAT3 может быть локализован в митохондриях, где он, по всей видимости, регулирует работу электрон-транспортной цепи и некоторые другие функции митохондрий. Было показано, что митохондриально-направленные куркуминоиды Mitocur-1 и Mitocur-3 снижают антиген-зависимую активацию тучных клеток путем ингибирования митохондриального STAT3. Однако механизмы этого ингибирующего действия все еще изучены недостаточно.

Мы продемонстрировали, что Mitocur-3 по отношению к клеткам линии RBL-2H3 является более токсичным, чем Mitocur-1. Предварительная обработка клеток нетоксичной концентрацией (1 мкМ) митокуркуминоидов в течение 3 часов приводила к снижению уровня антиген-зависимой дегрануляции и не влияла на спонтанную дегрануляцию клеток. Оба соединения вызывали фрагментацию митохондрий и увеличивали митохондриальную АФК. Предварительная обработка клеток ингибитором Drp1 mDivi-1 предотвращала фрагментацию митохондрий, индуцированную Mitocur-3, но не влияла на фрагментацию, вызванную Mitocur-1. В свою очередь, действие антиоксиданта n-ацетилцистеина оказалось противоположным - он предотвращал дробление митохондрий, индуцированное Mitocur-1, но не влиял на фрагментацию, вызванную Mitocur-3. Нами было показано, что фрагментация митохондрий, вызванная Mitocur-3, в отличие от Mitocur-1, сопровождается активацией ГТФазы Drp1 и АМР-активируемой протеинкиназы (АМРК). Эти данные указывают на вероятные отличия механизма действия митокуркуминоидов на митохондрии клеток линии RBL-2H3. По-видимому, эти различия не являются критическими для дегрануляции клеток RBL-2H3, но могут быть важны для цитотоксичности.

6.16. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ВАКЦИНАЦИИ НА ОСНОВЕ ФДТ-ИНДУЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК ГЛИОМЫ GL261 С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФОТОСЕНСА

Редькин Т.С.¹, Савюк М.О.¹, Слепцова Е.Е.¹, Турубанова В.Д.^{1,2}, Ведунова М.В.¹, Крысько Д.В.^{1,2,3}

¹ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

²Гентский университет, Гент, Бельгия

³Институт исследований рака, Гент, Бельгия

big.t.nsdav@outlook.com

В настоящее время не разработано оптимальных методов лечения онкологических заболеваний, которые бы гарантировали пациенту полное выздоровление и отсутствие рецидива. Иммуногенная клеточная смерть (ICD) подразумевает активацию специфической реакции иммунитета относительно трансформированных клеток, как результат выделения мертвыми/умирающими клетками молекул, ассоциированных с повреждением (DAMPs). Одним из методов индукции ICD является фотодинамическая терапия (ФДТ).

Целью стала разработка модели для оценки способности активации специализированного противоопухолевого иммунитета при использовании ФДТ *in vivo*.

Клеточная линия глиомы GL261 культивируется в CO₂-инкубаторе, и для фотодинамического воздействия используется препарат Фотосенс® (Photosens®, Russia). Клеточная линия GL261 инкубируется в бессывороточной среде с добавлением раствора Фотосенса в течение 4 часов, затем питательная среда заменяется на полную, клетки подвергаются фотоиндукции в дозе 20 Дж/см² и далее инкубируются 24 часа в CO₂-инкубаторе. Вакцинация мышей предполагает подкожную инокуляцию умирающих/мертвых клеток глиомы после фотодинамического воздействия с промежутком введения 7 дней. С одной стороны мыши вводятся вакцина, а с другой - живые опухолевые клетки. Манифестация и контроль развития опухолевого очага производится путем измерения объема опухоли на прививаемой стороне на протяжении 28-32 дней.

Наблюдалось подавление развития опухолевого очага при использовании выбранного фотосенсибилизатора в сравнении в контрольной группе.

Исследование выполнено за счет программы "Приоритет 2030".

6.17. АНАЛИЗ ЭКСПОНИРОВАНИЯ Кальретикулина на Поверхности Клеток Глиомы, Подвергшихся Фотодинамически-Индукцируемой Клеточной Гибели с использованием Тетраарилтетраанопорфиразина (pz II)

Слепцова Е.Е.¹, Турубанова В.Д.¹, Редькин Т.С.¹, Савюк М.О.¹, Ведунова М.В.¹, Крысько Д.В.^{1,2}

¹ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

²Гентский университет, Гент, Бельгия

ees222@list.ru

В предыдущих исследованиях уже была показана эффективность фотодинамического воздействия (ФДТ) на основе тетраарилтетраанопорфиразинов (pz I, pz II, pz III, pz IV) в отношении клеток глиомы GL261, а также проанализированы процессы испускания некоторых молекул DAMPs (АТФ и HMGB1). В настоящей работе рассматривается процесс высвобождения кальретикулина, одной из основных молекул DAMPs, которая обычно выделяется во время ранней фазы иммуногенной клеточной смерти.

Целью исследования было проанализировать уровень высвобождения кальретикулина при клеточной гибели, опосредованной ФДТ на основе одного из тетраарилтетраанопорфиразинов (pz II).

Клеточную гибель индуцировали ФДТ. Клетки глиомы GL261 инкубировали с pz II в течении 4 часов, после чего облучали. После культивирования соответствующее для группы количество часов (1,5; 3; 18 или 24), клетки окрашивали антителами к кальретикулину и ДНК-специфичным красителем Sytox Green. Образцы анализировали методом проточной цитометрии. Поверхностный кальретикулин определяли для Sytox Green негативных клеток. В качестве контрольной группы использовали клетки G1-261, убитые несколькими циклами заморозки-оттаивания

Было показано, что в первые часы после фотоиндукции активно возрастает количество клеток экспонирующих кальретикулин на поверхности клеточной мембраны. При этом если в случае индукции клеточной смерти фотодинамическим воздействием на основе порфиразинов все живые клетки, начиная с точки 1,5 часа, экспонируют кальретикулин, то в случае клеток, убитых несколькими циклами заморозки-оттаивания, лишь половина из всех живых экспонирует кальретикулин.

Это позволяет говорить о более высоком иммуногенном потенциале фотоиндуцированных клеток. Также продолжительное экспонирование кальретикулина среди еще живых клеток позволяет утверждать, что это ранний DAMP's, выделяющийся в первые минуты после фотоиндукции умирающими клетками и поддерживаемый только в первые часы на высоком уровне.

6.18. ИССЛЕДОВАНИЕ *IN VITRO* ВЛИЯНИЯ ДЕФЕНСИНОВ Psd1 И Psd2 НА ИММУННЫЙ ОТВЕТ КЛЕТОК КИШЕЧНОГО ЭПИТЕЛИЯ В УСЛОВИЯХ КАНДИДОЗА

Фатеева С.И.^{1,2}, Богданов И.В.¹, Воропаев А.Д.³, Овчинникова Т.В.^{1,2}, Финкина Е.И.¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²МГУ имени М.В. Ломоносова", Москва

³Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва
finkina@mail.ru

Известно, что дрожжеподобные грибы рода *Candida spp.* являются условно-патогенными микроорганизмами, которые присутствуют в кишечнике человека, но в условиях иммунодефицита вызывают развитие кишечного кандидоза. Показано, что эндогенные антимикробные пептиды, в том числе дефенсины человека, не только подавляют рост патогенов, но и обладают иммуномодулирующим действием. В тоже время, в литературе ограничены данные о влиянии экзогенных антимикробных пептидов на иммунную систему человека. В данной работе мы исследовали влияние двух растительных дефенсинов, Psd1 и Psd2 из гороха, на иммунный ответ клеток кишечного эпителия в условиях, моделирующих *in vitro* развитие кандидоза.

В качестве модели кишечного эпителия использовали клеточную линию колоректальной аденокарциномы Caco-2. Клетки культивировали в CO₂-инкубаторе при 37°C. Для адгезии культуры поверхности 24-луночных планшетов обрабатывали раствором желатина. Клинический изолят *Candida albicans* выращивали в течение ночи при 37°C в жидкой питательной среде. Рекомбинантные пептиды Psd1 и Psd2 получали методом гетерологичной экспрессии в клетках *Escherichia coli*.

Клетки Caco-2 инкубировали в течение суток с растворами пептидов Psd1 или Psd2 в микромолярных концентрациях, с суспензией клеток *C. albicans* в концентрации 10⁴ КОЕ/мл или со смесью патогенных грибов и растительных дефенсинов в тех же концентрациях. После этого клетки эпителия промывали и проводили выделение суммарной РНК. кДНК получали с помощью обратной транскрипции, используя олиго (dT) праймер. Уровни экспрессии генов провоспалительных цитокинов и эндогенных антимикробных пептидов оценивали методом ПЦР в реальном времени с интеркалирующим красителем. В результате было показано, что в условиях заражения защитное действие растительных дефенсинов может быть связано не только с их антимикробной активностью, но и со способностью регулировать выработку клетками эпителия молекулярных факторов иммунитета.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект № 22-25-00654).

6.19. ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕРЕКРЕСТНОЙ РЕАКТИВНОСТИ Gly m 4 СОИ И ОСНОВНОГО АЛЛЕРГЕНА ПЫЛЬЦЫ БЕРЕЗЫ Bet v 1

Финкина Е.И.¹, Данилова Ю.Д.², Матвеевская Н.С.³, Овчинникова Т.В.¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²МИРЭА - Российский технологический университет - Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва

³Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва
finkina@mail.ru

Gly m 4 относится к классу гомологов основного аллергена пыльцы березы Bet v 1 и является причиной развития аллергических реакций на сою разной степени тяжести, включая анафилаксию. Известно, что Gly m 4-опосредованные реакции часто развиваются у пациентов с аллергией на пыльцу березы и являются следствием перекрестной реактивности специфических IgE. Однако до сих пор неясно, может ли сам Gly m 4 выступать в роли сенсибилизатора, вызывающего Bet v 1-независимый иммунный ответ. В данной работе мы исследовали перекрестную реактивность Gly m 4 сои и Bet v 1 березы.

Для исследования иммунологического сходства аллергенов были получены поликлональные анти-Bet v 1 и анти-Gly m 4 антитела. Животных иммунизировали аллергенами, полученными методом гетерологичной экспрессии в клетках *Escherichia coli*. Методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) было показано, что анти-Bet v 1 IgG практически не связывались с Gly m 4, но при этом эффективно взаимодействовали с другими представителями класса гомологов Bet v 1. Анти-Gly m 4 IgG напротив характеризовались высокой специфичностью к аллергену сои. Низкая перекрестная реактивность полученных антител была также подтверждена методом ELISA с использованием в качестве ингибиторов рекомбинантных аллергенов сои и березы.

Далее для сравнительных экспериментов были использованы сыворотки пациентов с аллергией на пыльцу березы и сою, полученные из Клинико-диагностического центра ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского. Используемые сыворотки содержали только анти-Bet v 1 IgE или специфичные как к Bet v 1, так и к Gly m 4 IgE. Методом ELISA с использованием в качестве ингибиторов рекомбинантных аллергенов сои и березы было показано, что Gly m 4 не обладает значительным иммунологическим сходством с Bet v 1, и в его структуре могут присутствовать отличные от основного аллергена пыльцы березы В-клеточные эпитопы.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект № 20-45-05002).

6.20. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУБЪЕДИНИЧНОГО СОСТАВА И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РОЛИ ГЕТЕРОМЕРНЫХ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В МАКРОФАГАХ ЧЕЛОВЕКА

Холошенко И.В.^{1,2}, Синявин А.Э.², Кост В.Ю.², Шелухина И.В.²

¹Российский химико-технологический университет имени Д.И.

Менделеева, Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова РАН, Москва

innakholos5@gmail.com

Моноциты и макрофаги, продуцируя цитокины, играют центральную роль в патогенезе заболеваний воспалительной природы, например, сепсиса - опасной для жизни дисфункции органов, вызванной нерегулируемой иммунной реакцией организма на инфекцию. Активация гомопентамерного $\alpha 7$ нАХР макрофагов лежит в основе "холинергического противовоспалительного пути", однако функциональная роль гетеропентамерных нАХР (состоящих из комбинации α и β субъединиц) в макрофагах остается практически неизученной.

В настоящей работе методом ПЦР в реальном времени была обнаружена экспрессия практически всех известных α и β субъединиц нАХР макрофагах человека, происходящих из мононуклеаров крови доноров. Для подтверждения специфичности отжига разработанных праймеров использовались клетки нейробластомы SH-SY5Y, экспрессирующей $\alpha 3$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\beta 2$ и $\beta 4$ субъединицы нАХР, а также плазмиды, кодирующие гены $\alpha 4$, $\alpha 9$ и $\alpha 10$ субъединиц нАХР.

Далее было изучено влияние лиганд-индуцированной активации или ингибирования гетеромерных нАХР на экспрессию специфических мембранных белков макрофагов (CD86, CD163, CD206, CD209, HLA, PDL1), участвующих в воспалительных процессах и межклеточных взаимодействиях, а также на выработку ими цитокинов TNF- α и IL-10. Наиболее выраженным результатом стало снижение продукции IL-10 классически активированными макрофагами M1 (LPS/IFN- γ -индуцированная активация), участвующими в развитии воспалительных реакций организма, при ингибировании гетеромерных нАХР специфическими α -конотоксинами (MI, Vc1.1, G1C) и мекамиламином. В случае альтернативно активированных макрофагов M2, подавляющих воспаление, такого эффекта не наблюдалось. Полученные результаты могут иметь клиническое значение, т.к. снижение выработки IL-10 способно уменьшать выраженность иммуносупрессии при сепсисе, положительно сказываясь на общем течении этой дисфункции органов.

Работа поддержана грантом РФФИ № 22-24-00769.

6.21. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ ОПУХОЛЬ-ИНФИЛЬТРИРУЮЩИХ В-ЛИМФОЦИТОВ ПАМЯТИ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ИММУНОГЛОБУЛИНЫ А И G1

Щока Е.В.¹, Лукьянов Д.К.^{2,4}, Брюшкова А.А.^{2,3,5}, Чудаков Д.М.^{2,3,4},
Серебровская Е.О.^{2,3,4}

¹Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

³НИИ трансляционной медицины - РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва

⁴Сколковский институт науки и технологий, Москва

⁵МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

Shchoka.ev@cdr3.net

В-лимфоциты в опухолевом микроокружении способны производить большое количество антител и цитокинов и оказывать как протипухолевый, так и проопухолевый эффект. Задачей данного исследования являлось выявление фенотипических отличий синтезирующих IgA и IgG1 В-лимфоцитов на уровне транскриптома и как эти отличия обуславливают влияние В-лимфоцитов опухолевого микроокружения на прогноз течения заболевания.

В данной работе мы проанализировали суммарные транскриптомы опухоль-инфильтрирующих В-лимфоцитов памяти, продуцирующих IgA и IgG1 из образцов опухолевой ткани, полученных от 8 пациентов с LUAD и 11 пациентов из KIRC. Мы обнаружили, что экспрессия гена *FCRL4* в В-лимфоцитах LUAD, экспрессирующих IgA, значительно увеличена по сравнению с таковой в лимфоцитах, экспрессирующих IgG ($p_{adj} = 1,21E-30$, $\log_2 \text{FoldChange} = -3,77$), однако в KIRC статистического различия между В-лимфоцитами обнаружено не было и экспрессия гена оказалась низкой. Также была обнаружена дифференциальная экспрессия гена *RUNX2* ($p_{adj} = 6,67E-5$, $\log_2 \text{FoldChange} = -1,73$), которая, по литературным данным, коррелирует с экспрессией *FCRL4*. Известно, что мембранный белок *FCRL4*, кодируемый этим геном, может связывать константный домен (Fc) IgA и выступать в качестве супрессора для передачи сигнала от В-клеточного рецептора. По данным The cancer genome atlas (TCGA) экспрессия гена *FCRL4* в суммарных опухолевых транскриптомах, нормированная на экспрессию гена *CD20*, является негативным прогностическим фактором. То есть, высокая доля *FCRL4*-экспрессирующих лимфоцитов является маркером про-опухолевого фенотипа В-лимфоцитов. Предположительно, экспрессия *FCRL4* возрастает на IgA-экспрессирующих В-лимфоцитах при интенсивной стимуляции сигнального каскада В-клеточного рецептора, и, как следствие, высокой продукции иммуноглобулинов изотипа А, что является негативным прогностическим фактором при LUAD.

СЕКЦИЯ 7

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ КЛЕТОЧНЫХ ПРОЦЕССОВ И МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

7.1. ИНГИБИРОВАНИЕ КИНАЗЫ mTOR ИНДУЦИРУЕТ ПОКОЯЩЕЕСЯ СОСТОЯНИЕ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Александрова К.В., Суворова И.И.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург
aleksandrova_k_v@mail.ru

Одной из подтверждённых причин рецидива онкологического заболевания являются спящие диссеминированные опухолевые клетки; при этом по-прежнему нет полного понимания природы покоящихся раковых клеток. Предполагается, что покоящиеся раковые клетки могут воспроизводить механизмы клеточной гибернации, обнаруживаемые в стволовых клетках, в частности, подавление активности мишени рапамицина млекопитающих - mTOR (mammalian target of rapamycin). В нашем исследовании мы изучали роль киназы mTOR в регуляции спящего состояния опухолевых клеток.

Методы исследования. Построение кривой роста, проточная цитометрия, анализ клеточной репопуляции, ОТ-ПЦР.

Результаты. Ингибирование киназы mTOR AZD8055 вводит клетки опухолевых линий A549 (аденокарцинома лёгкого), PA-1 (тератокарцинома яичника) и T98G (глиобластома) в состояние пролиферативного блока, при этом клеточной гибели не наблюдалось. В то же время обработанные ингибитором опухолевые клетки уменьшались в размере. После отмены действия ингибитора mTOR раковые клетки указанных линий возобновляли свою пролиферацию, однако в зависимости от используемой концентрации AZD8055 клеткам требовалось разное количество времени для восстановления исходной популяции. Это означает, что киназа mTOR участвует в регуляции глубины покоя опухолевых клеток указанных линий: чем сильнее ингибируется активность белка, тем в более глубокое состояние покоя погружается раковая клетка. Кроме того, индукция спящего состояния приводит к тому, что раковые клетки исследуемых опухолевых линий начинают проявлять стволовые свойства; полученные данные коррелируют с наблюдением о более агрессивном поведении раковых клеток при рецидиве заболевания.

Таким образом, нами была показана существенная роль киназы mTOR в индукции и поддержании покоящегося состояния раковых клеток различной этиологии и патогенеза, а также предложена новая модель для изучения злокачественной гибернации.

7.2. FMRP И FXR2 - ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ РНП-ГРАНУЛ, СОДЕРЖАЩИХ АМИЛОИДНЫЕ ФИБРИЛЛЫ БЕЛКА FXR1

Валина А.А.¹, Галкин А.П.^{1,2}

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургский филиал ИОГен РАН, Санкт-Петербург
annavalina@mail.ru

Рибонуклеопротеиновые гранулы (РНП-гранулы) представляют собой макромолекулярные комплексы, состоящие из РНК и РНК-связывающих белков. Такие РНП-гранулы содержат различные молекулы РНК и регулируют их стабильность и трансляцию. Так, некоторые мРНК в составе РНП-гранул могут поддерживаться в трансляционно репрессированном состоянии, транспортироваться в определенные регионы внутри клетки и специфично транслироваться в ответ на внешние сигналы. Одним из РНК-связывающих белков, обеспечивающих репрессию трансляции мРНК, является белок FXR1, который участвует в регуляции долговременной памяти и психоэмоционального состояния. Ранее мы показали, что FXR1 присутствует в нейронах головного мозга представителей классов амфибий, рептилий, птиц и млекопитающих в форме амилоидных агрегатов [1, 2]. Гомологи FXR1, белки FMRP и FXR2, также являются репрессорами трансляции мРНК и демонстрируют высокий консерватизм аминокислотной последовательности N-концевого участка, который, как было показано нами ранее, ответственен за формирование амилоидных фибрилл FXR1 [1]. Данная работа была посвящена анализу локализации белков FXR1, FMRP и FXR2 в нейронах коры головного мозга крысы *Rattus norvegicus* и в культуре клеток нейробластомы человека IMR-32.

Мы показали, что на криосрезах мозга крысы *R. norvegicus* FXR1 и FMRP, а также FXR1 и FXR2 демонстрируют частичную колокализацию в околоядерной области кортикальных нейронов. Аналогичные результаты были получены в культуре клеток нейробластомы IMR32 в условиях оксидативного стресса, вызванных обработкой метаарсенитом натрия (NaAsO₂).

Таким образом, полученные данные позволяют предполагать, что исследуемые белки взаимодействуют и способны объединяться в общие РНП-гранулы. Вместе с тем, FMRP и FXR2 могут образовывать отдельные гранулы, не содержащие фибрилл амилоида FXR1. Остается открытым вопрос о функциональной роли таких РНП-гранул. Кроме того, принимая во внимание консерватизм амилоидогенного региона белков семейства FXR, интересно проверить не обладают ли FMRP и FXR2 свойствами классических амилоидов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 22-24-00451 и ресурсного центра "ЦКП ХРОМАС" научного парка СПбГУ.

Литература

1. Sopova et al. Sci Rep, 2019. 9(1), 18983. 10.1038/s41598-019-55528-6.
2. Velizhanina, & Galkin. Int J Mol Sci, 2022. 23(14), 7997. 10.3390/ijms23147997.

7.3. ДИНАМИКА ПРОДУКЦИИ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА И ЭФФЕКТ СВИДЕТЕЛЯ В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Горохова А.А., Бугрова Ю.С., Пескова Н.Н., Балалаева И.В.

ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород
anastasiya-dosaeva@yandex.ru

Фотодинамическая терапия (ФДТ) - это метод лечения онкологических заболеваний, который базируется на запуске окислительного стресса с образованием активных форм кислорода (АФК) в процессе протекания фотохимических реакций. Из всех видов АФК, образующихся при ФДТ, наиболее интересен пероксид водорода, так как помимо прямого цитотоксического действия он может рассматриваться как сигнальная молекула. В литературе последних лет высказано предположение, что пероксид водорода способен вызывать реакцию и в необлученных клетках - эффект свидетеля (ЭС).

Цель работы заключалась в анализе динамики содержания пероксида водорода в облучённых клетках и клетках-свидетелях при локальном фотодинамическом воздействии. Исследование проводили на клеточной линии эпидермоидной карциномы человека, экспрессирующей в цитоплазме генетически кодируемый сенсор HuPer , чувствительный к H_2O_2 (A431-HuPer). В качестве фотосенсибилизатора был использован Фотосенс® (НИОПИК, Россия). Относительное содержание H_2O_2 оценивали с помощью ратиометрического индекса, рассчитываемого как отношение флуоресценции сенсора при возбуждении на двух длинах волн - I_{488}/I_{405} . Фотодинамическому воздействию подвергалась лишь единичная клетка во всем поле зрения, а ответ анализировался как в облученной клетке, так и в клетках необлученной области.

Мы показали, что ЭС действительно наблюдается в необлученных клетках после локального фотодинамического воздействия. А также была установлена зависимость: чем дальше находится свидетель от облученной клетки, тем позднее и слабее регистрируется ЭС, либо клетка не отвечает вовсе. В экспериментах с добавлением в среду каталазы был зарегистрирован ответ лишь облучённой клетки, без ответа свидетелей. Этот факт согласуется с литературными данными о возможной роли пероксида водорода как сигнального посредника и инициатора сигнальных каскадов при ФДТ. Мы предполагаем, что H_2O_2 способен диффундировать из облученной клетки в соседние и запускать ответ, регистрируемый как развитие окислительного стресса в клетках-свидетелях.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (государственное задание № 0729-2020-0061).

7.4. ВОЗМОЖНОЕ УЧАСТИЕ NO В ПРОЦЕССАХ РЕГУЛЯЦИИ СВЕТОВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ СЕТЧАТКИ *Lymnaea stagnalis*

Доминова И.Н., Сафонов М.В., Коломыцев Р.Е.

Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта,
Калининград
irinadominova@gmail.com

Основной объем свидетельств наличия NO-ергического механизма в сетчатке и участия в модуляции ее процессов получен в исследованиях позвоночных животных. Для моллюсков, имеющих сходный тип оптики глаза, данные о возможной биологической роли NO в сетчатке, приведены лишь в двух работах, при этом роль NO установлена в различных процессах. Целью нашей работы было получение свидетельств возможного присутствия в глазу прудовика *Lymnaea stagnalis* механизма синтеза NO и его влияния на фотоответы сетчатки.

Молекулярно-биологическая часть работы была сфокусирована на поиске в глазу и мозге моллюска транскриптов двух изоформ гена синтазы оксида азота (NOS) и ее регулятора межгенного региона (antiNOS) с оценкой уровня их экспрессии. Для этого из образцов тканей была экстрагирована РНК и проведена количественная ПЦР. Праймеры для транскриптов NOS были взяты из работы Korneev с соавторами. Для нормализации уровней транскрипции двух изоформ гена NOS, межгенного региона antiNOS в качестве референсного использовался *Gapdh*, праймеры для которого были сконструированы с помощью Primer-BLAST. Расчет уровней транскрипции генов проводился с помощью метода $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

Транскрипция двух изоформ NOS и межгенного региона antiNOS была зафиксирована в тканях мозга и глаза моллюска. При этом в глазу было зафиксировано статистически значимое ($p < 0.05$) повышение уровней транскрипции NOS1 и NOS2 по сравнению с мозгом, для antiNOS подобные различия не наблюдались.

Электрофизиологическая часть работы была посвящена оценке влияния SNAP, донора NO, на электроретинограмму (ЭРГ) изолированного глаза. Во всех опытах было получено статистически значимое уменьшение амплитуды ЭРГ на 50-60% от исходной величины в физиологическом растворе после аппликации в $10^{-3}M$ SNAP ($p < 0.001$). Этот эффект был обратим и ЭРГ имела стойкую тенденцию к восстановлению в исходном растворе.

Полученные результаты свидетельствуют о принципиальной возможности генерации NO в сетчатке и влияния его на фотоответы сетчатки *Lymnaea stagnalis*.

Работа поддержана грантом БФУ для аспирантов (пр. № 879 от 12.11.2021).

7.5. ТРЕТ-БУТИЛГИДРОПЕРОКСИД В КАЧЕСТВЕ ИНДУКТОРА ПЕРОКСИДНОГО ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ

Дубенская Н.А.², Соколова Е.М.¹, Психа Б.Л.¹, Нешев Н.И.¹

¹ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН,
Черноголовка

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
Cyber-shop@mail.ru

Известно, что при нарушении работы антиоксидантной системы в клетках возрастает количество активных метаболитов кислорода, которые вызывают разнообразные оксидативные повреждения, приводящие клетку к состоянию окислительного стресса. Эффективным средством фармакологической коррекции оксидативных повреждений мембран служат биоантиоксиданты. В связи с этим не теряет своей актуальности и практической значимости развитие биологических моделей, на которых осуществляется тестирование химических соединений на антиоксидантную активность.

Работа посвящена исследованию пероксидного гемолиза эритроцитов под действием инициатора пероксидного окисления липидов, трет-бутилгидропероксида (t-BuOOH).

В период времени, предшествующий началу гемолиза было обнаружено нарастание уровня ТБК-реактивных продуктов в мембранах эритроцитов, зависящее от концентрации t-BuOOH, что свидетельствовало об активации ПОЛ.

В широком диапазоне концентраций была исследована кинетика гемолиза 0,2%-ной суспензии эритроцитов мыши под действием t-BuOOH. Гемолитическую активность t-BuOOH количественно характеризовали временем достижения 10% уровня гемолиза - период индукции гемолиза. Зависимость периода индукции гемолиза от начальной концентрации t-BuOOH была существенно нелинейной и хорошо аппроксимировалась затухающей биекспоненциальной функцией вида $y = A_1 e^{-k_1 c} + A_2 e^{-k_2 c} + y_0$, выходящей на стационарный уровень при высоких концентрациях t-BuOOH. Это может указывать на присутствие в системе двух различных факторов или процессов, влияющих на процесс гемолиза противоположным образом. С этим согласуется более ранний выход гемолитических кривых на плато при самых высоких концентрациях t-BuOOH ($2 \cdot 10^{-4}$ и $4 \cdot 10^{-4}$), что указывает на наступление равновесия по осмотическому давлению и остановку гемолиза.

Исследование кинетики гемолиза эритроцитов под действием t-BuOOH показывает, что в основе гемолиза помимо процесса ПОЛ в мембране могут лежать дополнительные факторы, природа которых обсуждается в докладе. Это обстоятельство следует учитывать при возможном практическом использовании t-BuOOH в качестве инициатора пероксидного гемолиза в эритроцитах.

7.6. ПРЕДСКАЗАНИЕ БЕЛОК-БЕЛКОВЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В КОМПЛЕКСЕ MutL- β -"ЗАЖИМ" ИЗ *Neisseria gonorrhoeae*

Литвинова А.В., Савицкая В.Ю.

МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

nas-lit@bk.ru

Neisseria gonorrhoeae - патогенный микроорганизм, вызывающий заболевание мочеполовой системы человека. Во избежание иммунного ответа организма-хозяина бактерия претерпевает антигенную и фазовую вариации. Мутации в генах белков системы репарации "мисматчей" (MMR) *N. gonorrhoeae* способствуют этим процессам, и, как следствие, развитию устойчивости к антибиотикам и видовой изменчивости [1]. Так, регуляция функционирования MMR может рассматриваться, как потенциальный подход к терапии гонореи. Одним из важнейших участников MMR является белок MutL, который вносит одноцепочечный разрыв в "дочернюю" цепь, инициируя процесс репарации. Несмотря на многочисленные исследования в этой области, многие вопросы о функционировании MutL не решены. Одним из них является процесс дискриминации цепей ДНК. Предположительно, в распознавание "дочерней" цепи вовлечена β -субъединица ДНК-полимеразы III (β -"зажим"), образующая комплекс с MutL, что необходимо для реализации репарации в целом [2]. Тем не менее, детального исследования взаимодействия β -"зажима" с MutL практически не проводилось, так как эксперименты *in vitro* затруднены ввиду нестабильности комплекса.

Методы моделирования белок-белкового докинга предполагают минимальные затраты и позволяют получить достаточно точные данные о структуре комплекса. Подходы моделирования сложных белковых комплексов можно разделить на те, которые использую нейронные сети и те, у которых докинг основан на быстрых преобразованиях Фурье. Чтобы выявить наиболее вероятную форму взаимодействия MutL с β -"зажимом", нами были выбраны программы и сервисы обоих типов: AlphaFold-Multimer, HADDOCK и ClusPro. С их помощью мы получили модели комплекса MutL- β -"зажим" из *N. gonorrhoeae* и выявили аминокислотные остатки, вовлеченные в это взаимодействие. С каждым годом описанные выше методы совершенствуются в предсказывании структуры. Их применение приблизит нас к пониманию механизмов различных молекулярных процессов, что необходимо для разработки лекарственных препаратов.

Литература

1. Criss, A. K. et al. Mismatch Correction Modulates Mutation Frequency and Pilus Phase and Antigenic Variation in *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Bacteriol.*, 192, 316-325 (2010).
2. Pilon, M. C. et al. The sliding clamp tethers the endonuclease domain of MutL to DNA. *J. Nucleic. Acids Res.*, 43 (22), 10746-59 (2015).

7.7. АНАЛИЗ МАРКЕРОВ КЛЕТОЧНОГО СТАРЕНИЯ В КЛЕТКАХ МИОКАРДА НА РАЗНЫХ СРОКАХ ПОСЛЕ ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНФАРКТА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА У КРЫС

Матюхин А.А.¹, Цорин И.Б.², Мирошкина И.А.², Крыжановский С.А.², Шрам С.И.¹

¹Институт молекулярной генетики - НИЦ "Курчатовский институт", Москва

²НИИ фармакологии имени В.В. Закусова, Москва

alexmatuchin-2011@mail.ru

Клеточное старение представляет собой процесс приобретения клеткой уникального фенотипа, характеризующегося необратимым арестом клеточного цикла и повышенной продукцией провоспалительных факторов. Этот процесс активизируется не только при старении организма, но также в условиях патологии, включая такую распространенную как инфаркт миокарда (ИМ). Предполагается, что при ИМ клеточное старение может играть двоякую роль: с одной стороны оно ускоряет регенерацию ткани в области повреждения, а с другой - обедняет пул стволовых клеток в миокарде и способствует развитию хронического воспаления. Целью данного исследования являлся количественный анализ уровня ряда признанных маркеров клеточного старения в фибробластах (ФБ) и кардиомиоцитах (КМ) желудочков сердца на разных сроках после воспроизведения ИМ у крыс.

Моделирование ИМ у лабораторных крыс производилось путем перманентной окклюзии левой коронарной артерии. На сроках 1,5, 3 и 9 месяцев после операции анализировали содержание SA-β-Gal, липофусцина и белка p16 в гистологических препаратах сердца. Иммуофлюоресценция p16 обнаруживалась как в КМ, так и в ФБ, при этом характер ее распределения в клетке был исключительно ядерным и перинуклеарным. Количественный анализ содержания p16 показал, что у крыс, перенесших ИМ, на сроках 1,5 и 3 мес содержание p16 в КМ левых желудочков было выше, чем в КМ правых желудочков, тогда как на сроке 9 мес наблюдалась обратная картина. В тоже время у инфарктных крыс уровень p16 в ФБ левого желудочка оказался более низким, чем в правом. При этом у ложноперированных животных наблюдали обратное соотношение уровней p16 в ФБ левых и правых желудочков. Анализ SA-β-Gal и липофусцина не выявил какой-либо корреляции между этими маркерами и уровнем p16.

Полученные результаты показывают, что в процессе развития хронической сердечной недостаточности, вызванной ИМ, содержание в клетках миокарда белка p16 значительно меняется. Однако патологическая значимость этого явления, также как и его связь с клеточным старением пока еще не совсем ясны.

7.8. РЕГУЛЯЦИЯ ПОСТИНТЕГРАЦИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ВИЧ-1

Нефедова А.А.¹, Анисенко А.Н.²

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

²НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ, Москва

nastyanefyodova555@gmail.com

Постинтеграционная репарация повреждений ДНК остается наименее изученным этапом жизненного цикла ВИЧ-1. Известно, что повреждения ДНК, образующиеся в результате интеграции кДНК ВИЧ-1 в геном клетки, устраняются при участии клеточных систем репарации, однако детальный механизм этого процесса до сих пор не известен. Ранее в нашей лаборатории определили, что ключевую роль в запуске постинтеграционной репарации играет ДНК-зависимая протеинкиназа (DNA-ПК). Для этого необходимы все компоненты комплекса: Ku70/Ku80, взаимодействующий с интегразой ВИЧ-1, а также каталитическая субъединица (DNA-ПКс). [1]

DNA-ПКс вместе с ATM и ATR относятся к семейству PIKK-киназ. Мы определили, что наряду с DNA-ПКс для постинтеграционной репарации ВИЧ-1 необходим ATM, но не ATR. В этом процессе активация ATM зависит от активации DNA-ПКс и наоборот. Интересно, что активация обеих киназ зависит от взаимодействия между интегразой ВИЧ-1 и Ku70. Кроме того, запуск сигнального пути киназами происходит в ответ на интеграцию вирусной ДНК.

Одним из финальных акцепторов сигнала от активированной ATM является репаративный гистон H2AX, фосфорилирование которого свидетельствует о наличии повреждений в ДНК. Мы обнаружили, что трансдукция клеток репликативно-некомпетентным вектором на основе генома ВИЧ-1 приводит к накоплению фосфорилированной по Ser139 формы H2AX (γ H2AX) в ядрах клеток, причем этот процесс зависит как от активности ATM, так и DNA-ПКс. Более того, накопление γ H2AX происходит только в случае, когда интеграза ВИЧ-1 взаимодействует с Ku70.

DNA-ПКс и ATM задействованы в клеточных репарационных путях, поэтому мы поставили цель исследовать задействованность других клеточных белков репарации в постинтеграционной репарации ВИЧ-1. Путем нокаута ряда NHEJ генов, регулируемых DNA-ПК, с использованием siRNA мы выявили ряд факторов, важных для репликации ВИЧ-1.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 19-74-10021.

Литература

1. Anisenko, A.N. et al. Characterization of HIV-1 integrase interaction with human Ku70 protein and initial implications for drug targeting. Sci. Rep. 2017.

7.9. РЕПАРАЦИЯ ДНК ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ МАЛЫХ ДОЗ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ В ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТАХ ЧЕЛОВЕКА

Ноздрачева А.В.^{1,2}, Плескач Н.М.², Куранова М.Л.², Воробьев К.В.¹

¹Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург

²Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург
shurupchi@mail.ru

Процессы репарации ДНК играют важную роль в сохранении целостности генома. Мутации в генах, кодирующих ключевые киназы и белки репарации, приводят к тяжелым заболеваниям, таким как атаксия-телеангиэктазия (AT, OMIM: 208900), при которой происходит мутация в гене ATM (кодирующем киназу ATM, OMIM: 607585), и синдрому Коккейна (CSA, OMIM: 216400; CSB, OMIM: 133540) с нарушением механизмов эксцезионной репарации (происходят мутации в гене ERCC8, кодирующий белок CSA, или в гене ERCC6, кодирующий белок CSB, от чего зависит тип заболевания).

Среди повреждающих ДНК агентов часто рассматривают ионизирующее излучение. Однако, в последнее время стали появляться работы, описывающие стимулирующий репарацию ДНК эффект у низкоинтенсивного ионизирующего излучения.

Целью данной работы изучение репарации ДНК при воздействии малых доз ионизирующего излучения в дермальных фибробластах AT и CS пациентов и здоровых доноров. Методом непрямой иммунофлуоресценции была изучена динамика количества, интенсивности флуоресценции и площади фокусов репарационных белков pATM и MRE11 в клеточных линиях через 30 минут, 1,5 часа, 6 часов, 24 часа после воздействия рентгеновского ионизирующего излучения в дозах 0,1 Гр, 0,3 Гр, 0,5 Гр и 2 Гр, а также после повторного воздействия излучения в дозе 2 Гр через сутки после первого.

В результате был показан стимулирующий репарацию ДНК эффект при малых дозах ионизирующего излучения, как в клеточных линиях здоровых доноров, так и пациентов с нарушением процессов репарации ДНК, а именно было показано меньшее количество фокусов белков pATM и MRE11 в случаях, когда на клеточные культуры изначально воздействовали ионизирующим излучением в дозах 0,1 Гр и 0,3 Гр, а через сутки облучали в дозе 2 Гр, нежели в случаях первоначального воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр и 2 Гр и облучения в дозе 2 Гр через сутки.

7.10. ИССЛЕДОВАНИЕ МОДУЛЯЦИИ ОТВЕТА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК НА ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ И РАЗЛИЧНЫЕ ВИДЫ ДЕПРИВАЦИИ ПРИ ПЕРЕХОДЕ К ТРЕХМЕРНОМУ КУЛЬТИВИРОВАНИЮ

Сенча Л.М., Добрынина О.Е., Поспелов А.Д., Гурьев Е.Л., Черкасова Е.И., Балалаева И.В.

ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород
luda-sencha@mail.ru

Микроокружение опухоли может существенно влиять на формирования устойчивости опухолевых клеток к воздействию цитотоксических соединений, а также неблагоприятным условиям. На рост, миграцию и пролиферацию отдельных клеток оказывает влияние множество сигналов, поступающих из внеклеточного матрикса. Одним из основных компонентов микроокружения опухоли является коллаген, что делает его пригодным для моделирования условий микроокружения солидной опухоли в культуре *in vitro*. Целью данной работы являлся сравнительный анализ устойчивости опухолевых клеток к дефициту питательных веществ и гипоксии, а также к действию терапевтических агентов при культивировании клеток в монослое и коллагеновом гидрогеле.

В работе были использованы экспрессирующие флуоресцентные белки клетки карциномы яичника человека SKOVip-kat и клетки эпидермоидной карциномы человека A431-GFP, культивируемые в монослое и коллагеновом гидрогеле. Было проанализировано влияние на рост 2D и 3D-культур питательной депривации (культуральная среда без FBS/глюкозы) и гипоксии (1% O₂). Определение жизнеспособности клеток в монослойной культуре осуществляли с помощью МТТ-теста. В случае коллагеновых гидрогелей использовали разработанный оригинальный подход, основанный на регистрации интегральной флуоресценции гелей. Было также проведено сравнительное исследование устойчивости опухолевых клеток, культивируемых в монослое и коллагеновом гидрогеле, к действию цисплатина и противоопухолевого таргетного токсина DARPIn-LoPE.

Для линии SKOVip-kat, наоборот, характерно понижение устойчивости клеток к сывороточной депривации при переходе от 2D к 3D культивированию, в то время как к воздействию глюкозной депривации данные клетки демонстрируют относительную нечувствительность. Анализ действия гипоксии на клетки, выращиваемые в гидрогелях, показал, что A-431-GFP замедляют пролиферацию, в то время как рост клеток SKOVip-kat статистически значимо от контроля не отличается. Культивирование клеток в гидрогеле также привело к повышению устойчивости опухолевых клеток к цисплатину и белковому токсину. Таким образом, показано, что присутствие коллагенового матрикса, в частности коллагена I типа, может значительно модифицировать ответ клеток на различные неблагоприятные условия культивирования и противоопухолевые агенты.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-74-20168).

7.11. ВИЗУАЛИЗАЦИЯ БЕЛКОВ В БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОМЕТОК

Тин П.А.¹, Крючкова А.К.¹, Томилина М.А.¹, Зубарев И.В.²

¹Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

pavel_tin@mail.ru

Информация о колокализации белков в белковых комплексах играет огромную роль для определения мишеней при диагностике и лечении орфаных заболеваний. Световая микроскопия не позволяет точно показать расположение нескольких белков в одном рецепторном комплексе в мембране клетки. Для визуализации с молекулярным разрешением применяют технологию иммуномечения золотом (IGS, immunogold staining), основанную на использовании нанометок, наночастиц золота, сшитых с антителами к исследуемым белкам [1]. Однако IGS имеет недостаток - использования только одного вида наночастиц не хватает для анализа белковых комплексов. А мечение серийных срезов не даёт точно локализовать белки.

Целью данной работы является разработка технологии для визуализации взаимодействий белков в белковых комплексах за счет маркировки нанометками нескольких металлов: золота, серебра, платины, железа и никеля. Такая технология позволит показать *in situ* взаимодействия белков. Используя функциональные тесты, мы сможем доказать наличие функциональной связи между этими белками. Анализ наночастиц металлов в образцах производится на энергодисперсионном спектрометре для определения химического состава наночастицы. Изображения нанометок на клеточных срезах получают на просвечивающем электронном микроскопе, имеющем разрешающую способность детектора 10 нм и камеры 0.5 нм. В ходе работы проведён контроль качества наночастиц и иммуномечения. Нами были определены оптимальные условия химической сшивки таких наночастиц с антителами с использованием дот анализа и хроматографии.

Данная технология позволит визуализировать белковый состав клеточных рецепторов и комплексов в норме и патологии, что критически важно при таргетном лечении заболеваний, вызванных нарушениями в сборке белковых комплексов, клеточном сигналинге.

Литература

1. Petralia R.S., Wang Y-X Review of Post-embedding Immunogold Methods for the Study of Neuronal Structures //Front. Neuroanat. - 2021

7.12. ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ОСНОВ УМСТВЕННОЙ ОТСТАЛОСТИ ПРИ СИНДРОМЕ КОФФИНА-СИРИСА В МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЕ *Drosophila melanogaster*

Токарев А.Т.¹, Степанов Н.Г.^{1,2}, Чмыхало В.К.¹, Деев Р.В.¹, Шидловский Ю.В.^{1,2}

¹Институт биологии гена РАН, Москва

²Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва
artemiy.tokarev@mail.ru

Синдром Коффина-Сириса - редкое генетическое заболевание, характеризующееся, помимо прочего, различными когнитивными отклонениями, такими, как нарушение памяти и обучения. В 68% случаев он ассоциирован с мутациями гена *ARID1B*. *ARID1B* входит в состав хроматин-ремоделирующего комплекса семейства SWI/SNF, являющегося консервативным среди всех эукариот. Целью нашего исследования является выяснение молекулярных основ развития синдрома Коффина-Сириса, вызванных мутациями *ARID1B*. Ген *OSA* дрозофилы является ортологом гена *ARID1B* человека. Для изучения роли фактора *OSA* в развитии и функционировании нервной системы мы проводим как снижение, так и повышение уровня *OSA* в нейронах головного мозга *Drosophila melanogaster*. Мы проводим нокдаун гена *OSA* методом РНК-интерференции с использованием нейрон-специфичных драйверов (система *GAL4/UAS*). Кроме того, с помощью системы направленного мутагенеза CRISPR-Cas9 в ген *OSA* была встроена последовательность *AID*, позволяющая проводить селективное истощение белка *OSA*. Для детекции белка мы также встроили в ген *OSA* последовательности, кодирующие эпитопы FLAG и V5. Повышение уровня фактора *OSA* осуществляется с помощью интеграции в геном мух трансгена, несущего кодирующую область *OSA* под тканеспецифичным промотором. Были получены линии мух, несущие указанные модификации. Была проверена экспрессия *OSA* и показано, что уровень фактора селективно изменяется в результате проведенных манипуляций. Таким образом, мы разработали систему, позволяющую контролировать уровень белка *OSA* в мозге дрозофилы. С помощью этой системы мы изучим эффект снижения и повышения уровня *OSA* на уровень экспрессии генов нервной системы и поведение мух.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 20-54-7803.

7.13. МУТАЦИИ ГЕНОВ БЕЛКОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ мтДНК ВЛИЯЮТ НА СОПРЯЖЕНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ В КЛЕТКАХ

Шитикова Е.Ю.¹, Казаков М.С.¹, Попов Д.Ю.¹, Борисов Е.Е.²

¹НТЦ биомедицинской фотоники ОГУ имени И.С. Тургенева, Орел

²РНЦ хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва

e_shitikova_02@mail.ru

Патологии, ассоциированные с мутациями мтДНК и нарушениями работы электронтранспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий, могут быть связаны с изменением продукции активных форм кислорода (АФК). При этом степень влияния мутаций должна зависеть от их локализации, сочетания в митохондриальном геноме и уровня гетероплазмии. Для комплексной оценки роли мутаций мтДНК в метаболизме митохондрий проведены исследования параметров дыхания клеток и скорости продукции различных форм АФК.

Работа выполнена на клетках цитоплазматических гибридов, созданных на основе rho0-клеток ТНР-1. Линии цибрид характеризуются различной скоростью дыхания (от 30 до 68 нг(O₂)/(мин·10⁶ клеток)). Выявлена корреляция между увеличением уровня гетероплазмии по нонсенс-мутации g15059a гена цитохрома b и снижением скорости дыхания. Внесение олигомицина, блокирующего АТФ-синтазу, привело к незначительному снижению скорости дыхания клеток (от 10,5% до 30%), что может говорить о нарушениях работы АТФ-синтазы или о высоком уровне разобщения окислительного фосфорилирования, которое может быть следствием защиты клеток от гиперпродукции АФК митохондриями. Выявлена положительная корреляция между скоростью образования АФК и степенью гетероплазмии по мутации g15059a. Это позволяет предположить, что связанное с данной мутацией снижение скорости дыхания цибрид является следствием влияния АФК, избыточно образующихся на III. Также было выявлено, что увеличение степени гетероплазмии мутации g13513a приводит к снижению выделения митохондриями супероксиданиона в трансмембранное пространство, которое происходит на III комплексе, что может являться следствием ингибирования I комплекса и уменьшением потока электронов через ЭТЦ. Это находит подтверждение в прямой зависимости между гетероплазмией мутации g13513a и образованием АФК в матриксе митохондрий.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-15-00317.

7.14. МОДЕЛИРОВАНИЕ РЕДОКС-СИГНАЛИНГА В ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОМ БАРЬЕРЕ *IN VITRO*

Шувалова М.Д.^{1,2}, Носов Г.А.^{2,3}, Белоусов В.В.^{1,3}

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва

³Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА, Москва
margarita22zelenskaya@gmail.com

Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) - структура, которая изолирует ткань мозга от большинства веществ и форменных элементов, циркулирующих в крови. Нарушения функционирования ГЭБ характерны для рассеянного склероза, травм мозга, инсультов, некоторых инфекционных и нейродегенеративных заболеваний. Известно влияние активных форм кислорода (АФК) на функционирование ГЭБ, однако механизмы этого влияния изучены слабо. Чтобы оценить эффект АФК на функционирование ГЭБ, мы сконструировали *in vitro* модель ГЭБ и изучили влияние эндогенной перекиси водорода на ее проницаемость. Модель состоит из церебральных эндотелиоцитов линии bEnd.3, растущих на верхней стороне пористой мембраны "Transwell" и астроцитов мыши, растущих на ее нижней стороне. Эндогенную перекись водорода в клетках генерировали с помощью хемогенетического генератора - оксидазы D-аминокислот (ДААО), который окисляет D-аминокислоты с образованием H₂O₂. Для доставки гена ДААО в клетки модели сконструировали аденоассоциированные вирусные векторы, несущие этот ген под эндотелиальным или астроцитарным промотором. Барьерные свойства модели оценивали по скорости диффузии флуоресцентного красителя Lucifer yellow. При генерации H₂O₂ в астроцитах проницаемость увеличилась на 36% через 24 часа, а через 48 часов была увеличена на 20% по сравнению с исходной. При генерации H₂O₂ в эндотелиоцитах проницаемость увеличивалась на 18% через 24 часа, а через 48 часов была увеличена на 20% по сравнению с исходной. После удаления D-аланина проницаемость модели в обоих случаях возвращалась к исходным значениям.

Таким образом в работе впервые было показано, что генерация H₂O₂ в отдельных компонентах модели ГЭБ - в астроцитах или в эндотелиоцитах - влияет на ее проницаемость в целом. Использование предложенной модели позволит выяснить роль редокс-сигналинга в каждом из типов клеток ГЭБ, а также найти потенциальные мишени для терапии при нарушениях барьерных функций ГЭБ.

7.15. ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО МЕХАНИЗМА ОТВЕТА ЗРЕЛЫХ АДИПОЦИТОВ 3T3-L1 НА ДЕЙСТВИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-4

Юдаева А.Д.¹, Мичурина С.С.^{2,3}, Стафеев Ю.С.², Парфёнова Е.В.^{2,3}

¹РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва

²НМИЦ кардиологии им. академика Е.И. Чазова МЗ РФ, Москва

³МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

aleksa.yudaeva@gmail.com

Сахарный диабет 2 типа характеризуется наличием хронического воспаления, где цитокины играют решающую роль в развитии инсулинорезистентности и прогрессировании заболевания. Интерлейкин-4 оказывает противовоспалительное действие, снижая продукцию основных провоспалительных цитокинов. К тому же, ИЛ-4 влияет на липидный метаболизм адипоцитов, стимулируя липолиз, а также улучшает *in vivo* чувствительность к инсулину и толерантность к глюкозе. Однако точный молекулярный механизм данного процесса неизвестен. Было показано, что действие данного цитокина не ассоциировано с активацией основного инсулин-зависимого пути IRS1-Акт. Также регуляция обмена глюкозы ИЛ-4 в адипоцитах происходит по STAT6-независимому механизму. Данное исследование посвящено дальнейшему изучению молекулярных механизмов ответа зрелых адипоцитов на действие ИЛ-4.

В рамках эксперимента клеточную линию преадипоцитов 3T3-L1 подвергали адипогенной дифференцировке и затем инкубировали с recombinantным ИЛ-4 в концентрации 50нг/мл в течении 24 часов. Затем с помощью иммуноблоттинга оценивали активность и экспрессию следующих сигнальных белков - ERK1/2, p38, JNK, mTOR, Rictor.

На основании полученных результатов было установлено, что воздействие ИЛ-4 на зрелые адипоциты 3T3-L1 не оказывает влияния на классический ERK1/2 и mTOR-зависимый сигнальные пути. При этом мы наблюдали тенденцию к снижению экспрессии и фосфорилирования p38-киназы. Также мы отметили незначительное снижение фосфорилированной формы сигнального белка JNK1/2. Метаболический стресс, являющийся важной характеристикой ожирения, представляет собой пример стимула, который активирует сигнальные пути JNK/p38. Хроническая активация данных путей приводит к метаболическим изменениям, связанным с нарушением чувствительности к инсулину. Из этого следует, что ингибирование интерлейкином-4 стресс-зависимых сигнальных путей JNK/p38 может является молекулярным механизмом, объясняющим положительное воздействие данного цитокина на чувствительность к инсулину и толерантность к глюкозе.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №20-015-00100.

СЕКЦИЯ 8

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ И БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ

8.1. РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА ALOX15 КАК БЕЛКОВОГО ОНКОМАРКЕРА

Аксенов В.В.^{1,2}, Шошина Н.С.², Гаврилюк В.Н.¹, Голованов А.Б.¹,
Журавлев А.М.¹, Степаненко В.Н.², Иванов И.В.¹

¹МИРЭА - Российский технологический университет, Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
aksenov.v.v@edu.mirea.ru

Арахидонат липоксигеназы-15 (hALOX15 и hALOX15B) человека являются диоксигеназами (КФ 1.13.11.33), которые окисляют липиды и входящие в них полиеновые жирные кислоты с образованием низкомолекулярных биорегуляторов - оксипиринов. Липоксигеназный каскад метаболизма полиненасыщенных жирных кислот может быть связан с патофизиологическими процессами, протекающими при раке толстой кишки. Экспрессия фермента ALOX15 строго контролируется и поддерживается в клетках здорового человека. Однако, в условиях патологии изменяется профиль продуктов окисления ALOX15. Ранние исследования указывают на то, что метаболит ферментативной реакции ALOX15 и линолевой кислоты - 13-гидроксиоктадекадиеновая кислота (13-HODE) - обладает противоопухолевым эффектом, тогда как метаболит ALOX15B и арахидоновой кислоты - 15-гидроксиэйкозатетраеновая кислота (15-HEETE) - обладает противоположным эффектом. Эти данные могут быть использованы при создании диагностических тест-систем на основе ферментных систем ALOX15 человека.

Основным этапом разработки биотехнологического синтеза ферментных препаратов ALOX15 в штамме-продуценте *E. coli BL21 (DE3) pLysS/pET28b(+)* является получение растворимой формы белкового продукта, так как в нерастворимой форме рекомбинантный фермент теряет координационную стабильность, которая критически важна для его каталитических свойств. Нами были использованы стратегии без модификации целевой векторной последовательности для успешной экспрессии ALOX15. Также определено, что высокая концентрация активного фермента достигается при периодическом культивировании с подпиточным раствором микроэлементов с временным профилем подачи до экспоненциальной фазы роста и добавлением неорганического фосфата в питательную среду. Наши исследования показывают, что критически важным оказался выбор времени подачи индуктора в начальной фазе экспоненциального роста с образованием мембранно-неассоциированной формы фермента.

8.2. СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ НОВЫХ МОДИФИЦИРОВАННЫХ НУКЛЕОЗИДОВ

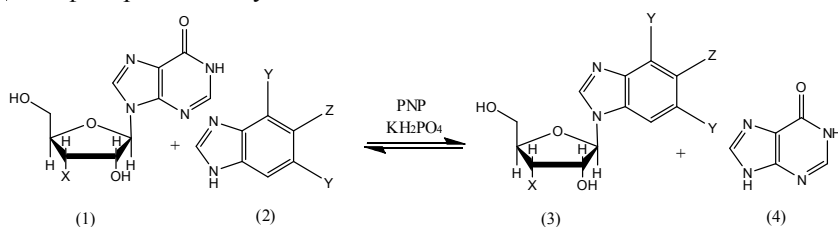
Алексахина И.А.¹, Каюшин А.Л.², Арнаутова А.О.²

¹МИРЭА - Российский технологический университет, Москва

²Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
aleksahinaia@gmail.com

Цель данной работы заключалась в синтезе ряда рибозидов бензимидазола. Нуклеозиды ряда бензимидазола обладают селективной противовирусной, противоопухолевой активностью и характеризуются невысокой цитотоксичностью.

Был разработан эффективный биотехнологический способ синтеза модифицированных нуклеозидов бензимидазола.



Синтез рибозида бензимидазола и 3'-деоксирибозида 4,6-дифтор-5-о-метил-бензимидазола. Инозин (Ino) **(1)** X=OH; 3'-деоксиинозин (3'dIno) **(1)** X=H; бензимидазол (Benz) **(2)** Y, Z=H; 4,6-дифтор-5-о-метил-бензимидазол (Sk-473) **(2)** Y=F, Z=OMe; рибозид бензимидазола **(3)** X=OH; 3'-деоксирибозид 4,6-дифтор-5-о-метил-бензимидазол **(3)** X=H, Y=F, Z=OMe; гипоксантин **(4)**.

Был разработан эффективный биотехнологический способ синтеза модифицированных нуклеозидов бензимидазола.

Синтез был оптимизирован по следующим параметрам:

- количество PNP (2800 е.а. для синтеза с Ino, 2100 е.а. для синтеза с 3'dIno);
- соотношения субстратов (Benz : Ino и Sk-473 : 3'dIno 2:6 и 1:7 соответственно).

После оптимизации условий был проведен препаративный синтез нуклеозидов бензимидазола, структура которых была подтверждена методом ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии.

Исследования противовирусной активности и цитотоксических свойств полученных нуклеозидов показали, что рибозид бензимидазола 3'-деоксирибозид sk-473 обладают достоверной противогерпетической активностью, что требует дальнейших исследований.

Выход рибозида бензимидазола - 25,5%, а 3'-деоксирибозида Sk-473 - 70%.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ (проект № 21-13-00429).

8.3. ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОДЛИННОСТИ ПРОДУКЦИИ ИЗ ЦИТРУСОВЫХ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ПИГМЕНТОВ МЕТОДОМ ТСХ

Андрусенко Е.А.¹, Каданова А.А.²

¹МБОУ СОШ № 44, Ставрополь

²Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь
svet1677@yandex.ru

Грейпфрут является гибридом апельсина и помело [1]. В связи с этим представлял интерес сравнительный анализ вытяжки пигментов из цедры грейпфрута, апельсина и помело с последующей идентификации пигментов методом тонкослойной хроматографии.

Для получения вытяжки пигментов брали навеску $m_{\text{сыр.}} = 0,5$ г, тщательно растирали в сухой фарфоровой ступке с 0,1 г CaCO_3 для предотвращения феофитинизации и 1 г Na_2SO_4 для обезвоживания. Измельчённый растительный материал в течение 15 минут настаивали с 3 мл смеси растворителей ацетон и этанол в соотношении 3:1, затем центрифугировали при 2000 об/мин в течение 3 мин и используют для дальнейшего анализа надосадочную жидкость. Из приготовленных таким образом образцов проводили тонкослойную хроматографию пигментов. На УФ-пластину силуфола (производства г. Краснодар) размером 10 x 10 см с помощью капилляра наносили вытяжку пигментов полосой 1,0-1,5 см с допустимой шириной - 0,5 см, расстояние от полосы до боковых краёв пластинки было не менее 1 см, до нижнего края пластинки 1 см. Вытяжки из грейпфрута, апельсина и помело наносят рядом на одну пластинку. Для лучшего разделения нанесения пигментов операцию повторяли трижды. В процессе нанесения вытяжки пластинку подсушивали струёй воздуха и помещали в хроматографическую камеру, предварительно насыщенную в течении часа смесью растворителей следующего состава: бензол : ацетон : этанол : гексан в соотношении 10 : 10 : 2 : 20. После того, как фронт растворителя поднялся вверх, не доходя 1 см до верхнего края пластинки, хроматограмму вынимали, отмечали линию фронта растворителя, просушивали на воздухе и идентифицировали зоны пигментов, просматривая пластины в УФ-свете в хроматографическом облучателе (длины волн 254/365).

Наблюдали специфические полосы пигментов на хроматографической пластине, при этом на хроматограмме пигментов грейпфрута содержались полосы характерные и для пигментов помело и для пигментов апельсина. Таким образом, данный анализ можно использовать при определении фальсификации продукции на основе цитрусовых.

Литература

1. Сяоменг Ли, Ранцинз Се, Чжэньхуа Лу и Чжицин Чжоу Происхождение культивируемых цитрусовых определяется на основе внутренней транскрибированной последовательности ДНК-спейсеров и хлоропластов и отпечатков пальцев с полиморфизмом длины фрагмента // Журнал Американского общества садоводства, 2010; 135: 341-350

8.4. ПЛАЗМОННЫЕ НАНОМАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ НИТРИДОВ МЕТАЛЛОВ ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ

Бабкова Ю.С.^{1,2}, Зелепукин И.В.¹, Деев С.М.^{1,2}

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²НИЯУ "МИФИ", Москва

babkovaserg@gmail.com

Создание новых средств высокочувствительной ранней диагностики и шадающей терапии онкологических заболеваний является важнейшей задачей современных биомедицинских исследований. Плазмонные наноматериалы, полученные методом лазерной абляции в жидкости, могут быть использованы для визуализации раковых клеток и в качестве сенсibilizаторов фототермической терапии под воздействием лазерного излучения. Одним из новых классов перспективных плазмонных материалов для онкотераностики являются наночастицы нитридов металлов, например, ZrN и HfN, способные генерировать сильный фототерапевтический эффект при облучении в пределах ближнего инфракрасного диапазона, соответствующего окну биологической прозрачности.

В настоящем исследовании были охарактеризованы наночастицы нитридов металлов подгруппы титана, полученных методом лазерной абляции, проведена их стабилизация в физиологических условиях и изучены фототермические свойства при облучении лазером с длиной волны 808 нм. Было проведено исследование биосовместимости наночастиц и эффективности фототермии *in vitro*. Тестами на клеточных линиях из разных тканей подтверждена низкая токсичность наночастиц на основе нитридов металлов, и показана высокая восприимчивость клеток к фототерапии. Также были изучены биораспределение и фармакокинетика наночастиц при внутривенном введении *in vivo*.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 19-72-30012).

8.5. КОМБИНАЦИЯ ГИДРОФИЛЬНОЙ И ОБРАЩЕННО-ФАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ И МОНОЛИТНОЙ КОЛОНКИ НА ОСНОВЕ 1-ВИНИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛА ДЛЯ ТАРГЕТИРОВАННОГО МЕТАБОЛОМНОГО СКРИНИНГА МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС/МС

Басов Н.В.^{1,2}, Рогачев А.Д.^{1,2}, Сотникова Ю.С.^{1,2,3}, Патрушев Ю.В.^{1,3}, Покровский А.Г.¹

¹ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Новосибирск

²Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Новосибирск

³Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, Новосибирск

basov@nioch.nsc.ru

Метаболомика - область системной биологии, заключающаяся в скрининге нативных низкомолекулярных метаболитов живой системы. В настоящее время она все чаще применяется для решения задач медицинской химии и клинической диагностики. Одним из аналитических методов, применяемых для анализа метаболома, является высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС). Максимальная чувствительность этого метода к полярным метаболитам достигается в режиме хроматографии гидрофильных взаимодействий (HILIC) при использовании элюентов с pH=9.0-9.8 [1] и колонок с полярными неподвижными фазами. Для анализа гидрофобных метаболитов, таких как липиды, стероиды и др. применяется обращенно-фазовая хроматография.

Большинство коммерческих колонок имеют неподвижную фазу на основе неорганической матрицы - силикагеля, для которого характерна химическая неустойчивость при использовании щелочных элюентов. В отличие от колонок на основе SiO₂, монолитные колонки с органической основой устойчивы в гораздо более широком диапазоне pH [2], что позволяет использовать в качестве элюентов как кислотные, так и основные буферные растворы. В данной работе предлагается подход по использованию органической монолитной колонки на основе сополимера стирола, дивинилбензола и 1-винил-1,2,4-триазола [3] для таргетированного скрининга как полярных, так и неполярных метаболитов методом ВЭЖХ-МС/МС. Были определены хроматографические условия их анализа как в гидрофильном, так и обращенно-фазовом режимах с использованием данной колонки и одного и того же набора элюентов (водный раствор (NH₄)₂CO₃+NH₃, pH=9.8; ACN). На примере модельного образца плазмы крови была показана возможность применения разработанного подхода для скрининга широкого ряда метаболитов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ №22-23-01068.

Литература

1. Li K., Naviaux J.C. et al. // *Metabolomics*, 2017, Vol. 13, N. 10, P. 122.
2. Causon T.J., Nischang I. // *J. Chromatogr. A.*, 2014, Vol. 1358, P. 165-171.
3. Sotnikova, Yu.S., Patrushev, Yu. V., Sidelnikov, V.N., Mazaeva, A. A. // *Talanta*, 2020. Vol. 220, 121400.

8.6. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СИНЯКА ОБЫКНОВЕННОГО *E. vulgare*

Бахтиярова А.Х., Бабич О.О., Дерябина Е.А., Ларина В.В.

Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта,
Калининград
bakhtiarova.allina@yandex.ru

В последнее время наблюдается рост внимания к терапевтическому потенциалу лекарственных растений в качестве антиоксидантов и антисептиков. Синяк обыкновенный широко распространен в Калининградской области и, согласно литературным данным, обладает способностью уменьшать воспаления, оказывает антисептический эффект, и издавна используется в народной медицине благодаря своим целебным свойствам. Однако антиоксидантная и противомикробная активность этого растения изучена недостаточно. Именно поэтому целью работы стало фитохимическое исследование синяка обыкновенного *Echium vulgare*.

Для изучения метаболомного состава синяка обыкновенного проводился подбор параметров экстракции. Были получены 3 вида экстрактов: ультразвуком водно-метанольным раствором и этанолом, этилацетом по методу Сокслета. Выход экстрактов оценивался гравиметрически. Наибольшее значение показал водно-метанольный экстракт (13,82%).

Все экстракты были исследованы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Образцы показали высокое содержание розмариновой кислоты (от 0,41 до 3,48 г/кг) и рутина (от 0,48 до 0,86 г/кг). Этанольный экстракт был богат астрагалином (0,99 г/кг). Помимо этого, в меньших количествах в экстрактах были обнаружены гиперозид, глюкозид кверцетина, хлорогеновая и 2,5-дигидроксibenзойная кислоты.

Далее экстракты были исследованы на противомикробную активность. Водно-метанольный экстракт показал действие против 2-х штаммов бактерий: зона ингибирования роста *B. subtilis* составила 6,0 мм, а *P. Aeruginosa* - 7,0 мм. Этилацетатный экстракт продемонстрировал зону задержки роста *P. Aeruginosa*, равную 6,0 мм. При исследовании антиоксидантной активности наибольшими значениями отличался метанольный экстракт. Относительно радикалов ABTS и DPPH он проявил активность, равную 87,82 и 74,58 мкмоль экв. тролокса/г соответственно, а по восстанавливающей способности FRAP - 55,80 мкмоль экв. тролокса/г.

Таким образом были показаны противомикробная и антиоксидантная активности синяка обыкновенного, что согласуется с богатым фенольным составом его экстрактов. Они отличались высоким содержанием розмариновой кислоты, рутина и других флавоноидов. По результатам исследования можно сделать вывод, что синяк обыкновенный может быть использован в разработке стратегий лечения расстройств, связанных с повреждением тканей, вызванным окислительным стрессом.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (номер соглашения 22-16-00044).

8.7. ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ БИОСИНТЕЗА ВИТАМИНОВ НА ПРИМЕРЕ ВИТАМИНА С

Безбородов Г.А., Окольников Ф.Б.

ГБОУ "Школа №2065", Москва

2065@edu.mos.ru

Актуальность темы определена изменением энергопотребления в мире. Традиционным лидером производства, а также поставок в Россию, до начала 2022 года была Германия. Однако фарминдустрия является энергоемкой отраслью и с высокой вероятностью экспортный рынок витаминов немецкого производства ожидает снижение качества и сокращение ассортимента. В связи с этим возрастает роль отечественных разработок витаминов с учетом достижений современной биохимии с использованием технологий микробиологического синтеза.

Основоположником развития указанного направления в российской науке был академик Безбородов Алексей Михайлович, который посвятил научные труды изучению разработки теоретических основ процесса микробиологического синтеза и промышленного применения.

Наиболее значимым витамином, нуждающимся в поддержке отечественной фарминдустрии является аскорбиновая кислота. До настоящего времени известны 6 способов ее получения. Наиболее распространен синтетический способ по методу Рейхштейна-Грюсснера: из D-глюкозы, которую каталитически гидрируют до D-сорбита, последний микробиологически (с помощью *Acetobacter suboxydans*) окисляют до L-сорбозы. При производстве идет большой расход энергии, так как требуется непрерывная закачка воздуха в реактор.

При этом известны способы получения аскорбинки из органики: из свежесобранного жема, и даже из игольчатых листьев. Однако, использование данных технологий в промышленных масштабах затруднено из-за низкого выхода готового вещества.

Перспективным направлением промышленного производства, позволяющего масштабировать производство, является выращивание действующего фермента либо клонирование гена фермента, как например, действуют производители по методу Соноя, когда окисляют D-глюкозу клетками *Erwinia*, в том числе клонированными.

Вывод: Развивать до промышленных масштабов направление производства витамина С и экспорта смогут страны с низкой ценой электроэнергии. В текущих условиях синтез витаминов на экспорт является выгодным бизнесом для российских компаний.

8.8. ИССЛЕДОВАНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ МИКРОВЕЗИКУЛ В КЛЕТКЕ МЕТОДОМ СКАНИРУЮЩЕЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСПЕКТРОСКОПИИ

Белицкая Е.Д.^{1,2}, Комарова В.А.², Рапопорт Е.М.², Тузиков А.Б.², Бовин Н.В.², Олейников В.А.², Залыгин А.В.²

¹НИЯУ "МИФИ", Москва

²Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
belitslayakatyua@yandex.ru

Флуоресцентная микроскопия - метод получения изображения, при котором используется люминесценция возбужденных атомов и молекул образца. Флуоресценцией обладают разнообразные молекулы и на спектральные свойства флуорофоров влияет целый ряд факторов и процессов, делающий флуоресцентную микроскопию полезным методом для изучения биологических объектов и позволяющий получить информацию о структуре организованных молекулярных систем.

Метод флуоресцентной микроскопии был применен для исследования взаимодействия с клеточных микровезикул (МВ) с клеткой. Целью данной работы было получение спектров флуоресценции, по интенсивности которых можно определить, как МВ взаимодействуют с клеткой, находятся они на поверхности клетки или внутри. Для этого исследовалось взаимодействие клеток EA.hy 926 (полученных из пупочной вены человека) с МВ этих же клеток; в МВ предварительно был встроен липид Су3-СМГ2-DOPE (синтетический липид, содержащий карбоксиметилглицерильный спейсер (СМГ(2)) и липидный остаток DOPE (1,2-О-диолеоил-*sn*-глицеро-3-фосфоэтаноламин).

Измерение спектров флуоресценции было произведено на установке Renishaw Raman inVia Qontor microscope при длине волны возбуждения 532 нм и мощностью возбуждающего излучения на образце 2,3 мВт. Был построен профиль интенсивности максимума пика флуоресценции (на длине волны 566 нм) с перемещением фокальной плоскости по высоте. На полученном графике было обнаружено два максимума на расстоянии 12,5 мкм друг от друга. Так как размер исследуемых клеток составляет 15-20 мкм, то с учётом деформации в вертикальном направлении можно утверждать, что МВ со встроенным липидом, локализуются, в основном, на поверхности клеточной мембраны.

8.9. ТЕХНОЛОГИЯ БИОДЕГРАДАЦИИ ПОЛИМЕРОВ С ПОМОЩЬЮ МИКРООРГАНИЗМОВ КИШЕЧНИКА ГУСЕНИЦ *Galleria mellonella*

Боровлева П.И.¹, Санкова А.В.², Чумаков А.А.¹

¹Детский технопарк "Кванториум", Орел

²Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина, Москва
polinaborovleva@gmail.com

Уникальная микрофлора кишечника гусениц (*Galleria mellonella*) способна к разложению полимерных материалов. На основе консорциума выделенных микроорганизмов может быть создана технология утилизации полимерсодержащих отходов.

Цель проекта заключается в выделении из гусениц огневок смешанной культуры микроорганизмов-деструкторов полимеров и разработать технологию утилизации полимерных отходов. Последняя может быть реализована как напрямую на полигонах, так и при использовании биореактора, возможно, она будет перспективнее.

Задачи: приобрести колонию гусениц и создать оптимальные условия для их развития; выделить из кишечника гусениц микроорганизмы, с культивированием на специализированных средах; проанализировать смешанные культуры, выяснив их способность к разложению полимеров; разработать методику применения выделенных микроорганизмов для решения проблемы накопления пластика в окружающей среде.

В ходе выполнения работы были созданы оптимальные условия для поддержания жизнедеятельности колонии в домашних условиях. Выделенные из кишечника *Galleria mellonella* смешанные культуры микроорганизмов, состав которых соответствует литературным данным, могут культивироваться на специальных средах и демонстрируют способность к деструкции пластика с образованием в качестве побочного продукта этиленгликоля. Методом лазерной сканирующей конфокальной микроскопии показано разрушение поверхности полимеров под влиянием выделенного бактериального консорциума. С целью интенсификации процесса разработаны модель и прототип биореактора, позволяющего создать оптимальные условия для реализации процесса.

8.10. РАЗРАБОТКА ГЕТЕРОГЕННОГО ИЗОТЕРМИЧЕСКОГО АМПЛИФИКАЦИОННОГО АНАЛИЗА ДНК-МИШЕНЕЙ, ОСНОВАННОГО НА ТРАНС-НУКЛЕАЗНОЙ АКТИВНОСТИ Cas12a

Буркин К.М.^{1,2}, Сафенкова И.В.¹, Иванов А.В.¹, Жердев А.В.¹, Дзантиев Б.Б.¹

¹ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

burkin-kost@yandex.ru

Диагностические тест-системы на основе CRISPR-Cas12a технологии являются новым перспективным инструментом для детекции ДНК/РНК-содержащих патогенов. Комплекс Cas12 и гидовой РНК (гРНК) распознает ДНК-мишень с высокой селективностью, что приводит к активации нуклеазной активности Cas12 по отношению к любым одноцепочечным фрагментам ДНК (ДНК-зондам). Цель данной работы - определить эффективные ДНК-зонды для детекции транс-нуклеазной активности Cas12a и создать на их основе анализ в гетерогенном микропланшетном формате.

В работе рассмотрены ДНК-зонды, содержащие на одном конце флуоресцеинную метку для детекции после гидролиза в реакции с активированным Cas12a, а на противоположном - биотиновую для иммобилизации на поверхности микропланшета: 1) одноцепочечные (оц) поли-dT ДНК (10-145 нуклеотидов (нт)), 2) комбинированные, включающие двуцепочечную (дц) ДНК (20-1000 п.о.), ПЭГ-спейсер и поли-dT 15 нт, полученные с помощью ПЦР. Эффективность расщепления дцДНК-зондов имела колоколообразную зависимость; максимум (50%) достигался для зонда длиной 160 нт. Сигнал, генерируемый в результате расщепления оцДНК-зондов, был пропорционален их длине; наибольшая эффективность расщепления (70%) наблюдалась для зонда длиной 145 нт. Таким образом, оцДНК-зонды были выбраны как более эффективные. Для оцДНК-зондов было рассмотрено использование других сигнальных реагентов: антител против флуоресцеина (иммунохроматографическая детекция), конъюгата антимышиных антител с пероксидазой и конъюгата полипероксидазы со стрептавидином (хемилюминесцентная детекция). Длинные оцДНК-зонды (50-145 нт) подходили для выявления активности нуклеазы Cas12a во всех изученных вариантах. Эффективность использования оцДНК зонда с длиной 145 нт показана в гетерогенном анализе с Cas12a на примере детекции фрагмента гена нуклеокапсида (N-ген) SARS-CoV-2. Предел обнаружения N-гена при флуоресцентной детекции высвобождаемого зонда составил 0,86 нМ. Предложенный селективный и экспрессный анализ на основе Cas12a имеет потенциал для дальнейшего увеличения чувствительности благодаря комбинации с рекомбиназной полимеразной амплификацией.

8.11. РОСТСТИМУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ

ФОСФАТМОБИЛИЗИРУЮЩЕГО ШТАММА *Pseudomonas* sp. GEOT18

Бычкова А.А., Зайцева Ю.В.

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль
anasanby98@mail.ru

Известно, что фосфор является одним из основных макроэлементов, необходимых для нормального роста и развития растений. Несмотря на высокое содержание данного элемента в почве, растения зачастую не способны его усваивать. Некоторые почвенные бактерии обладают способностью растворять неорганические фосфаты в процессе фосфатмобилизации и способствуют восполнению дефицита фосфора у растений. Кроме того, эти бактерии могут обладать целым рядом других ростстимулирующих свойств.

Целью данного исследования являлась оценка ростстимулирующей активности фосфатмобилизирующего штамма бактерий *Pseudomonas* sp. GEOT18, выделенного из эндосферы *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soo (Orchidaceae). Мы оценили такие свойства, как фосфатмобилизация, синтез фитогармона ауксина, а именно индолил-3-уксусной кислоты (ИУК), продукция сидерофоров, фиксация молекулярного азота. Исследования проводили по стандартным микробиологическим методикам. Для оценки безопасности штамма *Pseudomonas* sp. GEOT18 мы проверили его на фитопатогенность в условиях *in vitro* по наличию признаков мацерации растительной ткани клубня картофеля, инокулированного исследуемым штаммом. Также нами было изучено влияние штамма на рост и развитие растений в ходе проведения вегетационных опытов *in vivo* на бархатцах отклоненных *Tagetes patula* в условиях песчаной культуры по стандартной методике.

Результаты исследований показали, что штамм *Pseudomonas* sp. GEOT18 обладает выраженной фосфатсолубилизирующей активностью (высвобождает $3,25 \pm 0,05$ мг/мл минерального фосфора), синтезирует ИУК в концентрации $21,1 \pm 1,4$ мг/л, способен к продукции сидерофоров для повышения биодоступности железа для растений, проявляет азотфиксирующую активность. Кроме того, изучаемый штамм не мацерует растительную ткань. Наличие этих свойств делает его перспективным для дальнейших исследований в условиях вегетационного опыта. Установлено, что *Pseudomonas* sp. GEOT18 обеспечивает увеличение биомассы растений бархатцев отклоненных (на 30%), увеличение массы соцветий (в 2 раза), ускорение наступления генеративной фазы (на 2 недели) по сравнению с неинокулированными растениями.

Следовательно, штамм *Pseudomonas* sp. GEOT18 улучшает показатели роста растений, является безопасным, и потенциально пригоден для применения на сельскохозяйственных культурах для стимуляции их роста и развития.

8.12. МИКРОРАЗМЕРНЫЙ ПОТЕНЦИАЛЬНО ИМПЛАНТИРУЕМЫЙ ФЕРМЕНТНЫЙ БИОТОПЛИВНЫЙ ЭЛЕМЕНТ НА ОСНОВЕ КАРБЕНИЗИРОВАННОЙ НИТИ

Вахницкая Е.С.^{1,2}, Парунова Ю.М.¹

¹НИЦ "Курчатовский Институт", Москва

²НИЯУ "МИФИ", Москва

ekaterinavakhnitskaya@yandex.ru

Тенденцией развития современной медицины является использование различных имплантатов для поддержания жизнедеятельности организма при замене отсутствующей биологической структуры. Существует ряд активных имплантов, например, кардиостимуляторы [1], которые используются при соответствующей органной недостаточности и заменяют функции органа, потребляя электроэнергию от источника энергоснабжения имплантируемого устройства. Однако основной проблемой в данной области является необходимость заменять аккумуляторы, заряд которых закончился. Поэтому перспективным является использование имплантируемых источников энергии и в частности ферментного биотопливного элемента (ФБТЭ) в качестве источника энергии для подобных маломощных медицинских устройств, т.к. он использует растворенные в крови субстраты для производства электричества и не нуждается в замене. При разработке электродов для ФБТЭ, которые в дальнейшем будут имплантированы, должен учитываться такой важный фактор, как биосовместимость материала электрода и живой системы. В связи с чем в данной разработке была использована углеродная нить, которая обладает этими и другими свойствами такими, как высокая электропроводность, большая площадь поверхности, химическая устойчивость, а также возможность введения дополнительных компонентов для увеличения плотности тока. [2, 3] Ранее был произведен композитный биоанод с использованием многостенных углеродных нанотрубок (МУНТ), медиаторов, смеси полимеров и фермента глюкозооксидазы на основе стеклянного электрода. Он показал высокую эффективность, вырабатывая каталитический ток ~20 мкА, поэтому по той же методике был создан микроразмерный электрод на базе углеродной нити, который оказался высокопроизводительным и работал стабильно 7 дней, производя мощность ~0,7 мкВт в 2 мМ растворе глюкозы.

Литература

1. Плеханова Ю.В., Тарасов С.Е., Сомов А.С и др. // Российские нанотехнологии. 2019. Т. 14. №. 11-12. С. 3.
2. Reshetilov A. N. et al. Effect of some carbon nanomaterials on ethanol oxidation by *Gluconobacter oxydans* bacterial cells // Applied Biochemistry and Microbiology. - 2017. - Т. 53. - №. 1. - С. 123-129.
3. Алферов В.А., Васильев Р.Г., Губин С.П. и др. // Радиотехника. Наносистемы. Информационные технологии. 2014. Т.6. № 2. С. 187.

8.13. ИССЛЕДОВАНИЕ АЛЛОРЕАКТИВНОСТИ Т-КЛЕТОК, НОКАУТНЫХ ПО CD45

Волков Д.В.¹, Украинская В.М.¹, Масчан М.А.², Степанов А.В.¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева, Москва
ya.wolf.otl@yandex.ru

Т-клетки, модифицированные химерным антигенным рецептором (CAR-T) стали доминирующим объектом исследования стремительно развивающейся адоптивной иммунотерапии. Начиная с первого поколения химерных антигенных рецепторов (CAR), идет непрекращающаяся оптимизация структуры этой молекулы и способов надзора за действием CAR-T клеток, что привело к появлению еще четырех поколений рецептора и регистрации 5 препаратов на основе данной технологии. К сожалению, пайплайн создания CAR-T клеток предполагает не меньше недели от забора Т-клеток пациента до введения ему готового CAR-T клеточного продукта. Поэтому вместе с разработкой новых мишеней и подходов для противоопухолевой CAR-T терапии рассматриваются возможности для создания универсальных CAR-T клеток, которые бы не вызывали реакцию трансплантат против хозяина и создание которых было бы возможно впрок. В ходе нашего исследования по созданию специфичных к общему лейкоцитарному антигену CAR-T, как возможной альтернативы традиционным методам иммуноабляции, одним из этапов был нокаут по CD45. Эта тирозиновая фосфатаза экспрессируется на поверхности всех лейкоцитов и их предшественников, что способствует полноценной деплеции иммунных клеток такими CAR-T клетками. Нами была проведена оценка активности Т-клеточных рецепторов (TCR) у Т-клеток, нокаутных по CD45. Так как эта молекула - важная составляющая TCR-сигналинга, ее выключение может способствовать деактивации TCR, что напрямую ограничивает аллореактивность таких Т и CAR-T клеток.

Наше исследование имело целью установить, влияет ли нокаут по CD45 на активность TCR и, соответственно, оценить потенциал к снижению/отсутствию аллореактивности у таких Т-клеток. Полученные экспериментальные данные позволяют убедиться, что, хоть TCR и остается в некоторой степени работающим, есть тенденция к снижению активации клеток, что выражается в снижении экспрессии некоторых цитокинов и маркеров активации.

Наряду с более специфичным и безопасным подходом к кондиционированию, CD45-нокаутные Т и CAR-T клетки имеют шанс стать еще одним решением проблемы универсальности CAR-T, причем для их получения не придется проводить никакие дополнительные манипуляции.

8.14. ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАТНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЭКСТРАКТОВ КОРНЯ ВАЛЕРИАНЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ (*Valeriana officinalis* L.)

Воронова С.С., Сухих С.А., Ларина В.В., Бабич О.О.

Высшая школа живых систем, БФУ. им. И. Канта, Калининград
nraven352@icloud.com

Благодаря особым биологически активным веществам, которые содержатся в корне валерианы лекарственной (*Valeriana officinalis* L.), она широко используется в медицине в качестве успокоительного средства. Не смотря на широкое распространение лекарственного растения антиоксидантный потенциал *Valeriana officinalis* L. является малоизученным. В связи с этим изучили содержание вторичных фенольных метаболитов в *Valeriana officinalis* L. как компонентов с высокими антиоксидантными свойствами. На первом этапе подбирали растворитель, позволяющий извлечь наибольшее количество антиоксидантов. Для этого применяли три метода экстракции (метанолом по методу Сокслета, этилацетатом по методу Сокслета и водным раствором методом мацерации на водяной бане), так как в зависимости от экстрагента выделяются различные вещества).

Более высокой антиоксидантной активностью обладали водные (26,04±3,15 мкмоль экв. тролокса/г, 7,50±0,66 мкмоль экв. тролокса/г, 9,50±1,06 мкмоль экв. тролокса/г по ABTS, DPPH и FRAP соответственно) и метанольные (26,32±0,20 мкмоль экв. тролокса/г, 8,41±1,00 мкмоль экв. тролокса/г, 8,44±0,17 мкмоль экв. тролокса/г по ABTS, DPPH и FRAP соответственно) экстракты, а этилацетатный экстракт показал низкие значения антиоксидантной активности (4,62±0,14 мкмоль экв. тролокса/г, 1,44±0,12 мкмоль экв. тролокса/г, 2,34±0,13 мкмоль экв. тролокса/г по ABTS, DPPH и FRAP соответственно).

Содержание фенольных компонентов изучали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Основным соединением водного и метанольного экстрактов была хлорогеновая кислота (0,386 г/кг и 0,442 г/кг соответственно). Кроме того, в метанольных экстрактах обнаружено большое количество лютеолин-7-глюкозида (0,132 г/кг). В этилацетатных экстрактах обнаружено небольшое количество фенольных соединений.

Для фракционирования отбирали экстракт с наибольшей антиоксидантной активностью (полученный метанолом по методу Сокслета). Установлено, что наибольшей антиоксидантной активностью обладала фракция, содержащая хлорогеновую и неидентифицированная фенольную кислоты, а также следы кофейной кислоты.

Таким образом, показано, что антиоксидантная активность корня валерианы лекарственной вероятно обусловлена содержанием в ней хлорогеновой и неидентифицированной фенольной кислоты, структура которой изучается.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (соглашение № 21-76-10055).

8.15. НАНОЧАСТИЦЫ КАРБИДА ТИТАНА ДЛЯ ФОТОТЕРМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Горелик Л.В.^{1,2}, Зелепукин И.В.², Бабкова Ю.С.^{1,2}, Деев С.М.^{1,2}

¹НИЯУ "МИФИ", Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова РАН, Москва

Luba-eto-ya@yandex.ru

Плазмонные наночастицы (НЧ) представляют собой один из наиболее перспективных классов материалов для наномедицины и нанобиоинженерии. В данном исследовании изучались НЧ карбида титана (Ti_3C_2), полученные методом лазерной абляции. Имея плазмонное поглощение в пределах окна биологической прозрачности, наночастицы карбида титана потенциально могут превзойти золотые аналоги в фототераностических приложениях. Мелкодисперсные сферические наночастицы Ti_3C_2 , способны генерировать сильный фототерапевтический эффект при возбуждении 750-800 нм. В этом исследовании представлена первая оценка токсичности и проведена оценка биосовместимости наночастиц на линиях клеток человеческой аденокарциномы яичников, шейки матки и базальными эпителиальными клетками альвеолярного слоя.

Наночастицы Ti_3C_2 являются гидрофобными, поэтому первой поставленной задачей было достижение их растворимости в водных растворах. Для этого НЧ покрывались гидрофильной оболочкой, состоящей из ионов растворенного в воде олеата натрия.

Следующим шагом было изучение термической устойчивости наночастиц. Для этого было проведено несколько экспериментов по выявлению зависимости нагрева частиц от мощности лазера, изменению их температуры во времени при постоянной мощности, а также измерялась их термоустойчивость путем многократного последовательного нагрева и самопроизвольного охлаждения наночастиц.

Далее были произведены колориметрические тесты для оценки метаболической активности клеток на линиях клеток SKOV-3, HeLa, A549. Частицы показали себя безопасными для клеток в отсутствие нагрева лазером, что говорит о высокой биосовместимости. Также по результатам тестов были вычислены минимальные необходимые концентрации наночастиц для эффективного воздействия на клетки.

Результаты этой работы показывают, что наночастицы карбида титана имеют высокий потенциал в качестве препаратов для фототермии. Дальнейшими задачами являются изучение их фармакокинетики и опыты по лечению мышей с использованием наночастиц Ti_3C_2 .

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 19-72-30012).

8.16. ПЕРОКСИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ МАГНЕТИТА В ПРИСУТСТВИИ БЕЛКОВ КРОВИ

Горобец М.Г.^{1,2}, Мотякин М.В.^{1,2}, Абдуллина М.И.¹, Бычкова А.В.¹

¹Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва

²ФИЦ химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва

maria.g.gorobets@gmail.com

Магнитные наночастицы (МНЧ) оксидов железа в течение последних десятилетий широко применяются для создания материалов биомедицинского назначения: материалов для целевой доставки лекарств, магнитной гипертермии и др. Наночастицы магнетита обладают способностью катализировать распад пероксида водорода с образованием активных форм кислорода (АФК).

В работе исследовалось влияние человеческого сывороточного альбумина (ЧСА) и гемоглобина (Hb) на генерацию АФК, катализируемую МНЧ в присутствии H_2O_2 . Генерация оценивалась с помощью о-фенилендиамина (о-ФДА), образующего при взаимодействии с АФК 2,3-диаминофеназин (окФДА) с максимумом поглощения при 415-455 нм.

Показано, что при добавлении ЧСА к исследуемому раствору, содержащему МНЧ, о-ФДА и H_2O_2 , детектируемая генерация окФДА на поверхности МНЧ снижается, что может быть обусловлено перехватом молекулами белка АФК; взаимодействием ЧСА с молекулами о-ФДА и/или окФДА, влияющим на окислительную реакцию и/или детектируемость продукта окисления; стерическим экранированием поверхности МНЧ молекулами белка. При добавлении Hb эффект зависит от концентрации Hb: при малых концентрациях Hb отмечено небольшое понижение скорости генерации окФДА, вероятно, связанное со стерическим экранированием поверхности МНЧ молекулами Hb; при высоких концентрациях Hb показано увеличение скорости генерации окФДА, предположительно обусловленное вовлечением Hb в процесс разложения H_2O_2 .

Выявленный эффект экранирования белками поверхности МНЧ может иметь место при создании белковых покрытий на МНЧ для тераностики опухолей, а также вследствие связывания МНЧ с некоторыми белками при введении МНЧ *in vivo*, что может снизить потенциальную токсичность материалов на основе МНЧ при их циркуляции по кровотоку. Отмеченный для Hb эффект усиления пероксидазной активности системы с МНЧ может быть использован при разработке содержащих МНЧ материалов для тераностики опухолей, включающей их ферроптоз.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-75-10150, <https://rscf.ru/project/22-75-10150/>. Отдельные работы, связанные с исследованиями взаимодействия гемоглобина с наночастицами, выполнены в рамках государственного задания (тема 0084-2014-0001, № гос. рег. 01201253311).

8.17. ГИБРИДНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ Fe-Au ДЛЯ МУЛЬТИМОДАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ И ФОТОТЕРМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Грязнова О.Ю.^{1,2,3}, Беляев Я.Б.^{1,2}, Зеленукин И.В.^{1,2}, Деев С.М.^{1,2}

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²НИЯУ "МИФИ", Москва

³Сколковский институт науки и технологий, Москва
olga.griaznova@skoltech.ru

Гибридные мультимодальные наночастицы (НЧ), способные к одновременной неинвазивной визуализации и терапии, являются отличным кандидатом для тераностической платформы. В данной работе наночастицы Fe-Au, полученные методом импульсной лазерной абляции в жидкости, были изучены в качестве контрастных агентов для дуальной магнитно-резонансной томографии (МРТ) и компьютерной томографии (КТ), а также как сенсibilизаторы для лазерно-индуцированной гипертермии раковых клеток. Ферромагнитное железное ядро НЧ позволило использовать НЧ Fe-Au в качестве T2 контрастных агентов для МРТ, в то время как внешний слой наноразмерного золота показал появление контраста на КТ изображениях. Внутривенное введение наночастиц позволило четко визуализировать границы опухоли у мышей.

Биосовместимость наночастиц Fe-Au была улучшена покрытием полиакриловой кислотой, что обеспечило превосходную коллоидную стабильность наночастиц с сильно отрицательным ζ -потенциалом в воде и сохранение гидродинамического размера в натрий-фосфатном буфере.

Плазмонный пик гибридных НЧ Fe-Au обладает усиленным поглощением в ближней инфракрасной области (БИК), что позволило использовать их в качестве сенсibilизаторов для гипертермии при воздействии лазерного излучения с длиной волны 808 нм. При облучении длинами волн в БИК частицы Fe-Au обеспечивали нагрев, достаточный для снижения жизнеспособности трех различных линий раковых клеток. [1]

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2020-773).

Литература

1. Griaznova O. Yu. et al. Laser Synthesized Core-Satellite Fe-Au Nanoparticles for Multimodal In Vivo Imaging and In Vitro Photothermal Therapy// *Pharmaceutics*. - 2022. - Т. 14. - №. 5. - С. 994.

8.18. СУСПЕНЗИОННАЯ КУЛЬТУРА *Scutellaria baicalensis* Georgi КАК ПЛАТФОРМА ДЛЯ ПРОДУКЦИИ ФЛАВОНОИДОВ

Данилова А.А.

Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет МЗ РФ
shmarova.aleksandra@pharminnotech.com

Шлемник байкальский (*Scutellaria baicalensis* Georgi) - ценное лекарственное растение, содержащее комплекс полифенольных соединений, в частности флавоноидов. В эпоху пандемии коронавируса использование биологически активных веществ (БАВ) растения приобретает особое значение для создания препаратов с выраженным противовирусным и антиоксидантным действием. Для сокращения времени наработки биомассы, а также нивелирования вмешательства в естественную среду обитания целесообразным становится внедрение биотехнологических подходов. Введение растений в культуру *in vitro* зарекомендовало себя как перспективный метод получения сырья для последующего извлечения ценных БАВ.

В рамках данного исследования получена суспензионная культура шлемника байкальского, которая характеризуется относительно высокой степенью агрегированности (45%), наличием паренхимных клеток (размером 35-40 мкм), высокими показателями жизнеспособности (80,05%) и стабильными ростовыми свойствами (ростовой цикл культуры составляет 20-22 дня).

Для выращивания клеток шлемника на жидкой питательной среде предложено использование нескольких вариаций компонентного состава (по стандартной прописи Мурасиге-Скуга (МС) и с модификациями, а также Шенка-Хильдебрандта (ШХ)). При сравнении составов субстратов отмечено наиболее выраженное влияние модифицированной среды МС, включающей 6-бензиламинопурин (6-БАП) и гидролизат казеина, и среды ШХ на рост и развитие клеточной биомассы. Однако, данное предположение требует детализации, в связи с чем, работы по подбору состава питательных сред продолжаются.

Качественный анализ полученной биомассы подтверждает наличие таких ценных биологически активных соединений как флавоноиды, фенольные кислоты, каротиноиды, органические кислоты и др. Для извлечения соединений полифенольной природы предложено использование спирта этилового как наиболее универсального экстрагента для флавоноидов. Подбор параметров экстракции БАВ (концентрации этанола, времени и температуры) осуществляли с использованием матрицы полнофакторного эксперимента. Установлено, что сочетание таких факторов, как 70% спирт этиловый, время (60 мин.) и температура в диапазоне 50°C позволяет получить более обогащенное извлечение.

8.19. МОДЕЛИРОВАНИЕ САМОСБОРКИ НЕОГЛИКОЛИПИДОВ НА ОСНОВЕ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

Димитриева В.А.^{1,2}, Васкан И.С.¹, Тузиков А.Б.¹, Олейников В.А.¹, Бовин Н.В.¹, Залыгин А.В.¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
²НИЯУ "МИФИ", Москва
veronikadimitreva@yandex.ru

Гликолипиды на основе циклодекстринов могут быть использованы в системах адресной доставки лекарств, поскольку внутренняя полость циклодекстринов способна образовывать водных растворах комплексы включения с органическими молекулами. Кроме того, такие гликолипиды обладают амфифильными свойствами и способны самоорганизовываться в стабильные наноструктуры. Для того, чтобы понять, какие именно структуры получаются в результате самосборки таких молекул, применялись методы молекулярной динамики.

Используя программу Avogadro, были построены полноатомные (AA) модели для трех неогликолипидов на основе α -, β - и γ -циклодекстринов. Далее они были преобразованы в крупнозернистые (CG) модели с помощью пакета PyCGTOOL.

Изучение процесса самосборки молекул проводилось путем построения двух стартовых структур. Первой из них стала кубическая ячейка с размером сторон в 20 нм, заполненная водой, ионами NaCl в концентрации 0,15 моль/л и молекулами в количестве 100 штук. Для каждого типа молекул была создана отдельная ячейка. Далее для каждого неогликолипида на основе циклодекстринов были созданы несколько бислоев с разным расстоянием между молекулами: 1,5 нм, 2,0 нм и 3,0 нм, состоящие из 98 молекул. Обе стартовые структуры были построены и уравновешены с помощью программного пакета GROMACS. После минимизации энергии выяснено, что молекулы сформировали наночастицы в обоих случаях.

Крупнозернистые модели образовавшихся мицеллоподобных наночастиц были выделены из стартовых структур и развернуты в полноатомное представление. В случае неогликолипида на основе α -циклодекстрина полученные наночастицы состоят в среднем из 5-18 молекул, для β -циклодекстрина 8-18 молекул и для γ - 8-12 молекул. Анализ полученных структур показал, что молекулы гликолипида в составе мицеллы сгибаются так, что циклодекстриновое кольцо становится ближе к липидной части. Это также подтверждается тем, что присутствуют наночастицы диаметром около 35 ангстрем, в то время как длина развернутой молекулы гликолипида примерно 30 ангстрем.

8.20. ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТИ L-АСПАРАГИНАЗ ТЕРМОФИЛЬНЫХ И МЕЗОФИЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Добрякова Н.В.^{1,2,3}, Жданов Д.Д.^{1,2}, Шишпарёнок А.Н.^{1,2}, Генин А.К.³,
Жгун А.А.¹, Александрова С.С.², Покровская М.В.², Думина М.В.¹,
Кудряшова Е.В.^{1,3}

¹ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

²НИИ биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, Москва

³МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

natdobryak@gmail.com

L-аспарагиназы - ферменты класса амидогидролаз (КФ 3.5.1.1.), катализирующие реакцию гидролиза L-аспарагина до L-аспарагиновой кислоты и аммиака. Данные ферменты применяются для лечения лейкозов, а также в пищевой промышленности для снижения канцерогенного акриламида в процессе приготовления пищи. Недостатками L-аспарагиназ являются низкая субстратная специфичность и недостаточная стабильность. Актуальной проблемой является поиск новых источников L-аспарагиназ с повышенной специфичностью действия, активностью и стабильностью. Особый интерес представляют L-аспарагиназы термофильной бактерии *Melioribacter roseus* (MgA) и гипертермофильной археи *Thermococcus sibiricus* (TsA) [1].

В данной работе исследовали термостабильность и особенности вторичных структур MgA и ThA. В качестве сравнения использовали L-аспарагиназу из мезофильной бактерий *Rhodospirillum rubrum* (RgA). За изменением вторичной структуры ферментов следили методом КД-спектрометрии. Для L-аспарагиназ были получены кривые плавления в диапазоне температур 25-100°C и определены температуры плавления (Tm). Tm для TsA и MgA составили 89 и 69°C соответственно. Для RgA Tm составила 50°C. Для TsA наблюдалась агрегация и выпадение осадка, в то время как для RgA денатурация была обратима. Наибольшее изменение во вторичной структуре было обнаружено у TsA: количество α -спиралей снижалось от 34 до 8%, параллельных и антипараллельных β -листов - повышалось от 8 до 15%.

Работа выполнена с использованием оборудования (ИК-Фурье-спектрометр Bruker Tensor 27 (Германия) и Jasco J-815 CD Spectrometer) по программе развития МГУ.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №22-74-10100, <https://rscf.ru/project/22-74-10100/>.

Литература

1. Dumina, M., Zhgun, A., Pokrovskaya, M., Aleksandrova, S., Zhdanov, D., Sokolov, N., and El'darov, M. (2021) A Novel L-Asparaginase from Hyperthermophilic Archaeon *Thermococcus sibiricus*: Heterologous Expression and Characterization for Biotechnology Application, *Int. J. Mol. Sci.*, 22, 9894, doi: 10.3390/ijms22189894.

8.21. РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПЦР ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ГЕМОЛИТИЧЕСКИХ ШТАММОВ АЭРОМОНАД

Доклин Д.А., Зайцева Ю.В.

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль
DimonDokolin@yandex.ru

Бактерии рода *Aeromonas* представляют собой группу грамотрицательных палочковидных факультативно-анаэробных микроорганизмов, принадлежащих к семейству *Aeromonadaceae*. Представители данного рода способны вызывать заболевания у рыб, земноводных и млекопитающих. Особую опасность заражение аэромонадами имеет для предприятий, занимающихся разведением аквакультуры, поскольку в условиях высокой плотности популяции инфекция распространяется быстрее. Употребление зараженных аэромонадами продуктов может стать причиной развития инфекции у человека. В связи с этим важной задачей является организация мониторинга за эпидемическим потенциалом аэромонад.

Данное исследование посвящено разработке тест-системы на основе мультиплексной ПЦР для быстрого обнаружения гемолитических штаммов аэромонад. У бактерий рода *Aeromonas* α - и β -гемолизины представляют собой порообразующие белки, нарушающие целостность мембран клеточ-мишеней (эритроцитов, эпителиоцитов кишечника и других клеток). Синтез данных факторов патогенности детерминируют гены *hlyA* и *aerA* соответственно.

В работе использовали штаммы из коллекции кафедры ботаники и микробиологии ЯрГУ. ДНК бактерий выделяли с использованием коммерческого набора (Диа-М). ПЦР проводили на приборе БИС М-111-05-30 с использованием набора БиоМастер HS-Тaq ПЦР-Color (Биолабмикс) при следующих параметрах: предварительная денатурация 5 мин при 94°C; денатурация 40 с при 94°C, отжиг праймеров 40 с при 54°C и элонгация 40 с при 72°C (35 циклов); финальная элонгация в течение 5 мин при 72°C. Продукты ПЦР анализировали с помощью электрофореза в 1,5% агарозном геле, окрашенном бромистым этидием (10 мг/мл), в трис-ацетатном буфере (рН 8,4).

Подобранные праймеры для амплификации участков генов *hlyA* и *aerA* дали продукты размером 260 п.н. и 560 п.н. соответственно. Специфичность тест-системы была доказана при тестировании других видов бактерий, не относящихся к роду *Aeromonas*, таких как *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Pantoea*, *Brevibacterium* и *Pseudomonas*. Аналитическая чувствительность тест-системы определялась при тестировании серийных разведений геномной ДНК референтных штаммов и составила 1 нг/мкл.

Разработанная тест-система дает специфические и надежные результаты и может быть использована для обнаружения гемолитических штаммов аэромонад в образцах воды, рыбы и рыбопродуктов.

8.22. ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ *Microbacterium sp.* В КАЧЕСТВЕ БИОДЕСТРУКТОРА ПОЛИМЕРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Евдокимова Ю.С., Астахов П.С., Мурзина Е.Д.

Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева,
Москва
evdokimova.jul@yandex.ru

На текущий момент мир столкнулся с важнейшей проблемой, связанной с загрязнением окружающей среды - отходами полимерных соединений. Согласно данным Росстата количество твердых коммунальных отходов составляет 63 млн тонн в год (около 450 кг на человека), из них до 25% составляют различного вида полимерные материалы, срок полного разложения которых составляет более 100 лет. Под действием окружающей среды пластиковые отходы рассыпаются на микропластик, а затем попадают в воздух, почву, а далее по пищевой цепочке оседает в нашем организме. Известно, что человек в среднем накапливает до 250-300 г микропластика ежегодно. Большой объем пластикового мусора наносит непоправимый ущерб обитателям мирового океана. Но, независимо от причиняемого вреда, производство пластиковых изделий остается на высоком уровне, благодаря простоте использования, легкости и дешевизне материала.

Существует несколько способов утилизации пластиковых отходов: термическая переработка - пиролиз, механическое дробление (рециклинг), формовка, химические и физико-химические методы. Однако наиболее актуальным и экологически безопасным способом в процессах разложения полимеров является биodeградация пластиков.

Ранее на кафедре промышленной экологии РХТУ им. Д.И. Менделеева была выделена культура *Microbacterium sp.*, способная потреблять полиэтилентерефталат в качестве единственного источника углерода. После 14 суток культивирования на минеральной среде LCFBM было отмечено, что степень деградации пластика составила 3,12%.

В данной работе проводилось исследование деградации пластиков акрилонитрил бутадиен стирол (ABS) и полиэтилен высокого давления (LDPE) культурой *Microbacterium sp.* Культивирование проводилось 14 суток при температуре 25°C. Согласно полученным данным, степень эффективности биodeградации полимерных материалов культурой *Microbacterium sp.* составила для ABS - 3,94%, для LDPE - 3,4%. Дальнейшие исследования продолжаются.

8.23. ГАЛОФИЛЬНЫЕ МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА ИЗ НЕФТЯНЫХ ПЛАСТОВ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН И ИХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ

Ершов А.П., Семенова Е.М., Биджиева С.Х., Назина Т.Н.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

e.alexey.mail@yandex.ru

Многие нефтяные месторождения с высокоминерализованной пластовой водой находятся на поздней стадии разработки и нуждаются в применении новых технологий. Применение микробиологических методов повышения нефтеизвлечения (MEOR) на таких месторождениях бывает затруднено ввиду разрушения клеточных стенок микроорганизмов и денатурации их ферментов при высокой концентрации солей, а также из-за низкой растворимости кислорода в таких условиях. Стимулирование роста микробиоты, продуцирующей в пласте нефтевытесняющие метаболиты, осложняется также одновременной активацией сульфидогенных прокариот, которые вызывают коррозию нефтепромыслового оборудования и снижают качество нефти. Поиск способов воздействия на микроорганизмы нефтяных пластов, при которых увеличению нефтеотдачи сопутствует подавление образования сульфида, представляется актуальной научной и практической задачей.

Целью настоящего исследования было определение филогенетического разнообразия микроорганизмов в пробах пластовой воды из нефтяных месторождений Республики Татарстан, изучение нефтевытесняющих метаболитов, продуцируемых накопительными культурами из этих проб, и оценка влияния нитрата на жизнедеятельность выделенных сульфидогенных сообществ. Накопительные культуры бродильных бактерий накапливали нефтевытесняющие метаболиты (летучие жирные кислоты, спирты и газы) в средах с легкоутилизуемыми белковыми или сахаросодержащими субстратами. Однако при наличии в среде окисленных соединений серы бактерии образовывали сероводород. Методом высокопроизводительного секвенирования V3-V4 региона генов 16S рРНК показано присутствие бактерий родов *Halanaerobium*, *Geotoga*, *Thermovirga* и *Desulfoplanes* в накопительных культурах бродильных бактерий. Добавление 2 г нитрата/л приводило к подавлению образования сульфида при наличии в среде как сульфата, так и тиосульфата. Таким образом, представляется целесообразным нагнетание в нефтяные пласты органических субстратов для стимулирования роста биотехнологически значимых бродильных бактерий, а также нагнетание нитрата для подавления сульфидогенеза в пластовой воде и снижения коррозии нефтепромыслового оборудования.

Работа выполнена при поддержке РФФ (грант № 21-64-00019).

8.24. ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ЕСТЕСТВЕННЫХ АНТИТЕЛ ЧЕЛОВЕКА К ДИСАХАРИДУ $\text{GlcNAc}\beta 1\rightarrow 3\text{GalNAc}\alpha$ (CORE 3)

Ефимова В.Е.¹, Липатников А.Д.², Бовин Н.В.², Шилова Н.В.^{2,3}

¹Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

³НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова МЗ РФ, Москва
efimova.v.e@bk.ru

Известно, что раковые клетки различной этиологии приобретают характерные только им профили гликозилирования, связанные в том числе с блокировкой работы некоторых их гликозилтрансфераз и их регулирующих генов. В частности, клетки аденокарциномы кишечника теряют характерные для нормальных клеток О-гликановые цепи, экспрессируя лишь укороченные версии гликанов, такие как $\text{GalNAc}\alpha$ и $\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}\alpha$, и при этом полностью или частично утрачивают способность синтезировать ряд других коровых структур, таких как $\text{GlcNAc}\beta 1-3\text{GalNAc}\alpha$ (core 3). Присутствие core 3 на поверхности раковых клеток, согласно данным клинических исследований, связан с благоприятным прогнозом у больных с аденокарциномой толстой кишки.

Ранее в нашей лаборатории было показано, что в крови здоровых индивидуумов антитела к core 3 являются одними из высокопредставленных. Таким образом, можно предположить, что антитела к этому гликану выполняют надзорную функцию, элиминируя аберрантно-гликозилированные клетки ЖКТ, когда на их поверхности присутствует этот дисахарид.

Для проверки данной гипотезы из комплексного иммуноглобулинового препарата с помощью гаптен-специфической аффинной хроматографии были выделены антитела, которые охарактеризовали с помощью ИФА и гликоэкрена (содержащего порядка 600 гликанов). Количество выделенных иммуноглобулинов, а также соотношение IgG/IgM/IgA (преобладают иммуноглобулины класса М) согласуется с литературными данными о содержании и составе естественных антигликановых антител человека. Мы изучили их эпитопную специфичность и обнаружили, что кроме самого $\text{GlcNAc}\beta 1-3\text{GalNAc}\alpha$, то есть гаптена в аффинном выделении, анти-core3 способны связываться с рядом неродственных углеводных структур, в том числе с некоторыми бактериальными полисахаридами и $\text{GlcNAc}\beta$ -терминированными гликанами, что также согласуется с тем, что антигликановые антитела способны распознавать молекулярные паттерны, которые образуются, в том числе, и при онкотрансформации. Способны ли выделенные антитела осуществлять надзор за появлением опухолевых клеток и их элиминирование - предстоит выяснить.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 22-24-00398.

8.25. СИНТЕЗ НОВЫХ ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОЗИДОВ - АНАЛОГОВ АГОНИСТОВ АДЕНОЗИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Жаворонкова О.Н.^{1,2}, Елецкая Б.З.², Гроза Н.В.¹, Берзина М.Я.²

¹МИРЭА - Российский технологический университет, Москва

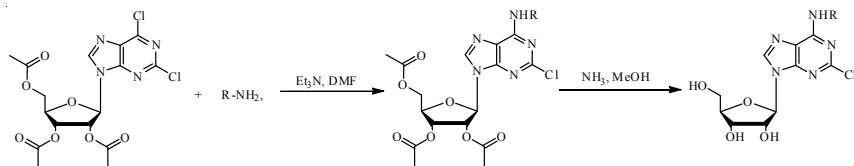
²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова РАН, Москва

99zhavoronkova@gmail.com

Модифицированные нуклеозиды могут выступать в качестве селективных агонистов аденозиновых рецепторов определенного типа, в частности, A_1 (A_1AR)¹. Поиск селективных лигандов A_1AR является актуальной задачей современной фармакологии при разработке препаратов для терапии ишемических заболеваний головного мозга и сердца, нарушений сна, иммунных, офтальмологических и воспалительных расстройств.

По реакции нуклеофильного замещения было проведено введение в С6 положение 2,6-дихлор-9-(2',3',5'-три-*O*-ацетил- β -*D*-рибофуранозил)пурина остатков аминоспиртов, которые являются восстановленными формами протеиногенных аминокислот, и их аналогов. Ацетильные защиты удалялись при помощи аммонолиза.



Синтез производных 2-хлораденозина, замещенных по 6-му положению.

Планируется исследование агонистической активности полученных соединений по отношению к A_1AR .

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ (проект № 21-13-00429).

Литература

1. Berzina M. Y. et al. Synthesis of 2-chloropurine ribosides with chiral amino acid amides at C6 and their evaluation as A_1 adenosine receptor agonists //Bioorganic Chemistry. - 2022. - С. 105878.

8.26. ПОЛУЧЕНИЕ ПОЛИВАЛЕНТНЫХ МОЛЕКУЛ НА ОСНОВЕ НАНОТЕЛ, НЕЙТРАЛИЗУЮЩИХ SARS-CoV-2

Жучков В.А., Чумаков С.П.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
vladislavzuckov79@gmail.com

В конце 2019 года в городе Ухань была зафиксирована резкая вспышка неизвестного заболевания, которое в дальнейшем получило название COVID-19. С течением времени получают развитие все новые штаммы SARS-CoV-2, поэтому крайне важно понимать механизмы работы вируса и возможные пути лечения для борьбы с пандемией. На сегодняшний день существует ряд вакцин, способных снизить риски заражения или же облегчить течение болезни. Однако поиски специфических терапевтических методов ведутся до сих пор.

Одной из возможных платформ для нейтрализации вирусов могут стать специфические антитела семейства верблюдовых. В их сыворотке существуют антитела, лишенные легких цепей и доменов CH1. Варибельные домены, осуществляющие связывание со специфическими антигенами, носят название VHH. Эти уникальные фрагменты антител являются наименьшими единицами взаимодействия антиген-антитело, поэтому их также называют нанотелами. Такие нанотела обладают рядом преимуществ относительно полноразмерных двуцепочечных антител.

В нашей лаборатории была проведена селекция фаговой библиотеки антител, полученной из сыворотки иммунизированных животных. После чего были отобраны 13 вариантов нанотел, способных специфично и высокоэффективно связываться с шиповидным белком SARS-CoV-2. Среди отобранной панели присутствуют образцы, способные нейтрализовать связывание вирусных частиц различных штаммов (включая B.1.617.2 и B.1.1.529) с рецептором ACE-2, что было продемонстрировано на клеточных линиях с использованием как псевдотипированных вирусных частиц, так и живого вируса.

Для повышения эффективности связывания и нейтрализации на основе нанотел могут быть сконструированы различные модифицированные молекулы. На данный момент нами получены варианты, слитые с Fc фрагментом для увеличения периода полувыведения их из организма. Также синтезированы димерные конструкции, полученные методом функционализации двух различных нанотел с последующей сшивкой, и тетрамерные молекулы, образующиеся в результате прикрепления 4 нанотел к ядру из полиэтиленгликоля. Реакции осуществляются методами клик-химии, что позволяет упростить производство и избежать сложных химических реакций. Кроме того, олигомерные конструкции составлены из нескольких вариантов нанотел, способных связываться с различными участками шиповидного белка. Благодаря этому наблюдается более высокое сродство к белку-мишени за счет повышения avidности. Такой подход позволит увеличить шансы связывания молекулы с вирусной частицей в случае появления новых мутантных штаммов.

8.27. ДНК-РЕГИСТРИРУЮЩИЙ АГЕНТ, ОСНОВАННЫЙ НА "УМНЫХ" МАТЕРИАЛАХ

Завалко Ф.А.¹, Новичихин Д.О.², Орлов А.В.², Шипунова В.О.¹

¹Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

²Институт общей физики имени А.М. Прохорова РАН, Москва
zavalko.fa@phystech.edu

"Умные" материалы (УМ), меняющие свои физические свойства под воздействием внешнего физического или молекулярного сигнала (например, ДНК-олигонуклеотида), имеют большой потенциал в развитии современных методов молекулярной диагностики. ДНК-регистрирующие УМ являются перспективными агентами для быстрого анализа ДНК-маркеров вирусных и онкозаболеваний в биологических жидкостях, однако практическое применение большей части агентов ограничено в силу слабой чувствительности. Следовательно, большой интерес представляет разработка чувствительного и быстрого ДНК-регистрирующего агента.

В данной работе предложено детектирование ДНК-олигонуклеотидов в ИФА-формате на носителе-силикагеле с помощью "наномаяка" - УМ на основе наночастиц, меняющего активность в присутствии аналита. Принцип данного УМ заключается в следующем: поверхность "умного" материала модифицирована ДНК-олигонуклеотидом с биотином на 5'-конце. В отсутствие комплементарной ДНК биотин "спрятан" и недоступен для взаимодействия со стрептавидином. Комплементарная ДНК при взаимодействии с УМ образует дуплекс, при этом персистентная длина ДНК-цепи значительно увеличивается, что приводит к увеличению доступности биотина. Также предложен ДНК-регистрирующий биосенсор, основанный на методе биослойной интерферометрии (BLI), позволяющий детектировать и оптимизировать создание УМ на основе "наномаяка" на каждом этапе сборки. Предложенный сенсор в том числе прогнозируемо позволяет измерять кинетические константы взаимодействия биомолекул на каждом этапе сборки "наномаяка" по кинетике адсорбции/десорбции.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ № 22-73-10141.

8.28. ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ ДИНОФИТОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ *Pyrocystis lunul*

Загитова Р.И.¹, Синетова М.А.², Ямпольский И.В.¹, Осипова З.М.¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва
zagitova.ri@phystech.edu

Динофлагелляты - группа морских протистов, объединяющая ~2400 видов, некоторые из которых обладают способностью к биолюминесценции. Некоторые аспекты биохимии биолюминесценции динофлагеллят изучены довольно хорошо, в то время как пути биосинтеза люциферина до сих пор остаются загадкой [1]. Для изучения биосинтеза люциферина необходима наработка большого количества биомассы динофлагеллят, содержащей люциферин и другие метаболиты, участвующие в изучаемых процессах.

Наработка биомассы динофлагеллят является непростой задачей вследствие низкой скорости их роста и особенностей метаболизма, не позволяющих достичь высокой плотности культуры [2], поэтому требует оптимизации условий культивирования для конкретного вида. Для культивирования были выбраны автотрофные динофлагелляты *P. lunula*, поскольку они люминесцируют гораздо активнее других видов и содержат относительно высокие концентрации люциферина. Оптимизацию проводили по следующим параметрам: температура, соотношение длительности циклов "день-ночь" и различное содержание нитрата и фосфата в среде. Переход от рекомендуемых для культивирования динофлагеллят 20°C к 25°C увеличило количество биомассы, собираемой с литра культуры, в 2 раза, а увеличение соотношения периодов "день/ночь" до 16/8 и 24/0 по сравнению с классическим соотношением 12/12 - в 1,5 раза. Добавление питательных веществ - нитрата и фосфата не показало влияния на рост *P. lunula* в данных условиях. Также не было обнаружено разницы при культивировании на средах, стерилизованных автоклавированием или стерилизующей фильтрацией. Применение автоклавирования значительно снижает стоимость и трудоемкость подготовки среды.

Исследование было выполнено при поддержке гранта Президента Российской Федерации № МК-4055.2022.1.4.

Литература

1. Fajardo C. et al. New perspectives related to the bioluminescent system in dinoflagellates: *Pyrocystis lunula*, a case study // International journal of molecular science. 2020. V. 21. P. 1-22.
2. Rodriguez J.J.G. et al. Culture of dinoflagellates in a fed-batch and continuous stirred-tank photobioreactors: Growth, oxidative stress and toxin production // Process Biochemistry. 2010. V. 45. P. 660-666.

8.29. ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО ГОЛОДАНИЯ НА РОСТ И НАКОПЛЕНИЕ МЕТАБОЛИТОВ КЛЕТКАМИ *Coelastrella* sp. IPPAS H-626

Заднепровская Е.В., Крапивина А.А., Синетова М.А., Аллахвердиев С.И.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва
zadneprovskaya@ifr.moscow

Одноклеточные зеленые микроводоросли являются ценными источниками множества биологически активных веществ: липидов, пигментов, белков, углеводов и т.д. Спектр применения этих веществ широк: медицина, биоэнергетика, пищевая индустрия, косметология и т.д.

Объектом данного исследования является зеленая микроводоросль *Coelastrella* sp. Chod. штамм IPPAS H-626 (коллекция IPPAS ИФР РАН им. К.А. Тимирязева, Москва). Цель исследования - изучение влияния азотного и магниевого голодания на рост и биохимический состав клеток зеленой микроводоросли *Coelastrella* sp. IPPAS H-626. Для представителей семейства Scenedesmaceae, к которому относится род *Coelastrella* Chod., в качестве запасных продуктов характерны крахмал и липиды.

Культивирование микроводоросли проводилось в течение трех суток на модифицированной среде Тамия 1/2, Тамия 1/2-N, Тамия 1/2-Mg в сосудах при следующих условиях: температура - 30°C, освещенность - 110 мкмоль фотонов м⁻²с⁻¹, аэрация стерильной газовой смесью, обогащенной CO₂ (1,5-2%). Забор проб осуществлялся в начале культивирования, а также через 24, 48 и 72 часа.

В ходе исследования было определено, что азотное голодание приводит к снижению ростовых показателей, утолщению клеточных стенок и смене цвета культуры (хлороз); на третьи сутки культивирования доминирующим типом пигментов являются каротиноиды. При недостатке магния культура приобретает бурый цвет, ростовые показатели сравнимы с контролем.

В целом, исключение из среды азота и магния приводит к повышению уровня углеводов и липидов в клетках исследуемого штамма. В случае недостатка азота сдвиг происходит в сторону запасания липидов, голодание по магнию ведет к большему накоплению углеводов.

Результаты получены в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (121033000136-14) и при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-44-08001, грант № 20-14-00280).

8.30. СОПОСТАВЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА СОСТАВА МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА МЕТОДАМИ qPCR И NGS

Злобовская О.А.¹, Дементьева Е.В.¹, Мешков И.О.¹, Бикаева И.О.¹, Глазунова Е.В.¹, Яфарова А.А.², Загайнова А.В.¹, Шипулин Г.А.¹

¹Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью ФМБА, Москва

²НМИЦ терапии и профилактической медицины МЗ РФ, Москва
olgazlob@yandex.ru

В рамках изучения связи микробиоты кишечника с различными заболеваниями проводили количественную оценку таксономического состава микробиома фекалий у пациентов с атеросклерозом и хронической сердечной недостаточностью. Для выделения ДНК из фекалий использовали два набора QIAamp: Fast DNA Stool Mini Kit и PowerFecal DNA Kit. Оценка таксономического состава осуществляли двумя методами: с помощью секвенирования нового поколения (NGS) и количественной ПЦР в режиме реального времени (qPCR). При анализе методом NGS амплифицировали и анализировали регионы V3-V4 гена 16S рРНК, выравнивая полученные последовательности на данные баз SILVA и RDP. Анализ qPCR проводили для отдельных таксономических групп (таксонов): семейств Enterobacteriaceae, Lactobacillaceae, Christensenellaceae; родов *Bacteroides* sp., *Bifidobacterium* sp., *Odoribacter* sp., *Oscillibacter* sp.; видов *Enterococcus faecalis*, *Faecalibacterium prausnitzii*.

С помощью многокомпонентного и линейного дискриминантного анализов результатов qPCR удалось достоверно различить образцы, выделенные разными методами ($p < 0.001$), но при оценке методом NGS различия не были обнаружены ($p = 0.39$).

Для данных NGS относительное содержание некоторых таксонов существенно отличалось в зависимости от используемой базы данных, вплоть до того, что ряд таксонов был определен только по одной из двух баз. Наблюдаемые расхождения влияли и на результат статистической обработки: в некоторых случаях различие по содержанию ДНК у исследуемых и контрольной групп было статистически значимым в случае только одной из двух баз. Для большинства таксонов между данными NGS и qPCR корреляции выявлено не было.

Таким образом, метод NGS обоснованно использовать в качестве первичной оценки представленности различных таксономических групп (в случае анализа регионов V3-V4 гена 16S рРНК - преимущественно семейств). Для количественной оценки и определения наличия корреляционной зависимости между исследуемыми группами рекомендуется дополнительный анализ содержания ДНК методом qPCR для таксонов, выявленных с помощью NGS.

8.31. ХИМИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ 3'-ДЕЗОКСИРИБОЗИДА 2-АМИНОБЕНЗИМИДАЗОЛА

Зорина Е.А.^{1,2}, Каюшин А.Л.², Арнаутова А.О.², Константинова И.Д.²

¹МИРЭА - Российский технологический университет, Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова РАН, Москва

katzorina@mail.ru

Модифицированные нуклеозиды - один из важнейших классов антиметаболитов, которые активно используются в практической медицине для терапии распространенных вирусных инфекций, таких как вирус простого герпеса, вирус иммунодефицита человека, цитомегаловирусная инфекция, гепатит С и другие. Кроме того, многие модифицированные нуклеозиды обладают противоопухолевым действием.

Существует два основных подхода к получению аналогов природных нуклеозидов: химический и ферментативный синтез. Более простым и быстрым считается ферментативный синтез, катализируемый нуклеозидфосфорилазами. Он не требует введения защитных групп в гетероциклическое основание и/или углеводную часть молекулы и, как следствие, не требует выделения и очистки полупродуктов. Кроме того, данный метод характеризуется стереоселективностью - образуются только природные β -аномеры. Однако нуклеозидфосфорилазы обладают высокой субстратной специфичностью и с их помощью невозможно синтезировать некоторые интересные соединения. В этой работе мы использовали комбинированный подход.

Цель этой работы заключалась в получении 3'-дезоксирибозида 2-аминобензимидазола из рибозида 2-аминобензимидазола (полученного ферментативным путем) для дальнейшего изучения его биологической активности.

В ходе работы мы изучили возможность синтеза 3'-дезоксирибозида 2-аминобензимидазола ферментативным путем с применением генно-инженерных ферментов - пурииннуклеозидфосфорилазы (PNP) и уридинфосфорилазы (UP). Выяснилось, что эти ферменты не катализируют нужную реакцию.

Поэтому была разработана схема четырех стадийного химического синтеза 3'-дезоксирибозида 2-аминобензимидазола через промежуточное бромпроизводное рибозида 2-аминобензимидазола с выходом целевого продукта 23%.

8.32. ГИБРИДНЫЙ БИСПЕЦИФИЧНЫЙ БЕЛОК DR5-B-iRGD С ПОВЫШЕННОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ ПРОТИВ ГЛИОБЛАСТОМЫ

Исакова А.А.^{1,2}, Воронцова Е.В.¹, Курбанова Л.А.¹, Марквичева Е.А.¹, Артыков А.А.¹, Долгих Д.А.^{1,2}, Гаспарян М.Э.¹, Яголович А.В.^{1,2}

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
alina.labbio@gmail.com

Рецептор-селективный белок DR5-B на основе противоопухолевого цитокина TRAIL индуцирует апоптотическую клеточную гибель, специфично связываясь с рецептором смерти DR5 на поверхности опухолевых клеток. Ранее была разработана технология получения рекомбинантного гибридного биспецифического белка DR5-B-iRGD в клетках *E.coli*. Опухоль-специфичный пептид iRGD связывается с интегрином $\alpha\beta 3$, гиперэкспрессированным на поверхности опухолевых клеток, протеолитически расщепляется мембранными протеазами и приобретает аффинность к рецептору NRP-1, что приводит к усиленному проникновению в опухоль. Полученный гибридный белок связывался с рецептором DR5 также эффективно как DR5-B (KD $1,658 \pm 0.080$ нМ и $1,460 \pm 0.066$ нМ для DR5-B-iRGD и DR5-B соответственно) и проявил высокую аффинность к интегринам $\alpha\beta 3$ (KD $1,886 \pm 0.110$ нМ). DR5-B-iRGD показал повышенную цитотоксическую активность в клеточных линиях глиобластомы человека *in vitro*. Было показано, что DR5-B-iRGD быстрее проникает в мультиклеточные сфероиды на основе клеточной линии глиобластомы U-87. Кроме того, гибридный белок DR5-B-iRGD проявил повышенное противоопухолевое действие *in vivo* на подкожных ксенографтах глиобластомы человека U-87 в иммунодефицитных мышах Balb/c nu/nu. Препарат DR5-B-iRGD на 30% эффективнее тормозил рост опухолей по сравнению с DR5-B. Таким образом, биспецифический гибридный белок DR5-B-iRGD можно рассматривать в качестве перспективного кандидата для терапии глиобластомы.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-14-00224, <https://rscf.ru/project/21-14-00224/>.

8.33. СОЗДАНИЕ И АНАЛИЗ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ПЕГИЛИРОВАННЫХ КОНЬЮГАТОВ scFv-ФРАГМЕНТОВ GD2-СПЕЦИФИЧНЫХ АНТИТЕЛ С ПРЕПАРАТАМИ ГРУППЫ МАЙТАНЗИНОВ

Калиновский Д.В.¹, Доронин И.И.¹, Холоденко И.В.², Деев С.М.¹, Холоденко Р.В.^{1,3}

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва

³ООО "Реал Таргет", Москва

dcalinovschi@yahoo.com

Все конъюгаты антител с лекарствами (ADC), одобренные для клинического применения в терапии рака, получены на основе полноразмерных антител. Использование в конъюгатах с лекарствами фрагментов антител (fragment-drug conjugates, FDC) способно повысить терапевтическую эффективность препарата, поскольку FDC лучше проникают внутрь солидных опухолей, а также за счет увеличения максимальной переносимой дозы, что обусловлено более коротким временем циркуляции фрагментов антител в организме.

Опухлеассоциированный маркер ганглиозид GD2 широко распространен на различных типах рака, однако исследования в области GD2-специфичных ADC практически отсутствуют. Нами была проведена конъюгация scFv-фрагментов GD2-специфичного антитела ch14.18, применяемого в терапии нейробластомы, с введенным в структуру молекулы scFv неспаренным С-концевым цистеином, и препаратов семейства майтанзинов DM1 либо DM4 посредством тиол-малеимидной реакции с малеимид-активированными молекулами полиэтиленгликоля (ПЭГ) с различным количеством функциональных групп. Майтанзины DM1 и DM4 являются высокотоксичными тиол-содержащими препаратами, активно исследуемыми в составе ADC, однако их гидрофобная природа приводит к частичной агрегации ADC в ходе конъюгации и затрудняет получение продуктов с высоким содержанием лекарства. Использование в качестве линкера гидрофильной молекулы ПЭГ является одним из способов решения данной проблемы.

Конъюгацию проводили в формате двухстадийной реакции: на первой стадии в водно-органическом растворе майтанзины конъюгировали с малеимид-активированными молекулами ПЭГ, после чего полученные продукты сшивали с GD2-специфичными scFv-фрагментами антител в отсутствие органического растворителя. FDC очищали с помощью гель-фильтрации и аффинной хроматографии, а DAR определяли посредством спектрофотометрического анализа и электрофореза в ПААГ. Высокое связывание конъюгатов с ганглиозидом GD2 было подтверждено в ходе прямого ИФА. Полученные FDC продемонстрировали сильные цитотоксические эффекты в ходе анализа в МТТ-тесте в опухолевых клеточных линиях с высокой экспрессией GD2, в то время как на GD2-отрицательных линиях цитотоксическое действие отсутствовало.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 22-74-00104.

8.34. МАГНИТНО-ПОЛИМЕРНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ ФОТОИНДУЦИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ HER2-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ

Коваленко В.Л.¹, Колесникова О.А.^{1,2}, Комедчикова Е.Н.^{1,2}, Шипунова В.О.^{1,2}

¹Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
kovalenko.vl@phystech.edu

Фототермическая терапия является одним из самых перспективных и быстроразвивающихся направлений в современной онкологии. Полимерные наночастицы, включающие в себя низкомолекулярные фототермические красители, способны доставлять терапевтические вещества к области локализации опухоли, контролируемо их высвобождать и оказывать терапевтическое действие при воздействии внешнего источника излучения.

В данной работе были синтезированы полимерные наночастицы размером до 200 нм из биосовместимого сополимера молочной и гликолевой кислот - PLGA, включающего в себя комплекс фталоцианина с магнием (PLGA/Pht-Mg). В работе показано, что частицы PLGA/Pht-Mg обладают выраженными гипертермическими свойствами при воздействии ближнего ИК-излучения. Эффективность использования синтезированных частиц для уничтожения раковых клеток была продемонстрирована в культуре *in vitro*. Затем был разработан метод синтеза, модификации поверхности и стабилизации ядер магнетита, которые были включены в PLGA матрицу для получения магнитно-полимерных наночастиц. Синтезированные полимерно-магнитные наночастицы (mPLGA/Pht-Mg-HER2) размером до 250 нм, включающие в себя комплекс фталоцианина с магнием, были модифицированы анти-HER2 антителом, распознающим - онкомаркер HER2 на поверхности раковых клеток человека. Было показано, что данные частицы способны нагревать водный раствор более чем на 30°C при облучении ИК-светом. Была продемонстрирована эффективность частиц *in vitro*, а именно - селективная цитотоксичность по отношению к клеткам со сверхэкспрессией рецептора HER2. Также были проведены *in vivo* исследования данных гибридных наночастиц, а именно, показано эффективное накопление данных наночастиц в опухоли при активной магнитной доставке и продемонстрирована фотоиндуцированная терапия данных опухолей при ИК-облучении.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ № 22-73-10141.

Литература

1. Shipunova V.O. et al. *Pharmaceutics* 2022; 14(1): 43.
2. Shipunova V.O. et al. *Pharmaceutics* 2022; 14(5):1013.

8.35. РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ТРАНСГЕННОЙ ТКАНИ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ *Fabaceae*

Козлов Н.В.¹, Симонова В.Ю.², Красноперова Е.Ю.¹, Поценковская Э.А.¹, Творогова В.Е.¹, Лутова Л.А.¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

²Университет "Сириус", п. Сириус

bionkbio@gmail.com

Представители семейства Бобовых (*Fabaceae*), имеющих широкое распространение по всему миру и различные жизненные формы, достаточно давно и весьма активно используются человеком в самых разных сферах его жизнедеятельности: в фармацевтике, фундаментальных и прикладных исследованиях, в пищевой и деревообрабатывающей промышленности, в животноводстве, ландшафтном дизайне. В связи с этим, изучение генетики бобовых и разработка способов получения трансгенных культур/линий данных растений имеет как важное научное, биологическое, так и огромное практическое значение.

Данное исследование проводится на двух модельных объектах из семейства Бобовых (*Fabaceae*): Люцерне усечённой (*Medicago truncatula*) и Горохе посевном (*Pisum sativum*). Его целью является разработка прижизненной системы визуализации трансгенной ткани бобовых для последующих попыток решения проблемы низкой эффективности трансформации *P. sativum*, изучения фундаментальных причин этого. Более того, такая система должна быть полезна при изучении генных регуляторных сетей и факторов, регулирующих процесс индукции и последующего развития соматических эмбрионов. К тому же с её помощью можно отслеживать динамику экспрессии генов-интереса на живых объектах, при изучении иных фундаментальных и биотехнологических процессов.

В рамках работы проходила апробация системы визуализации с посмертным окрашиванием, основанной на репортере GUS, а также системы прижизненной детекции трансгенной ткани с флуоресцентными белками GFP и DsRed. На данном этапе осуществляется разработка и адаптация к изучаемым модельным объектам систем прижизненной визуализации, основанных на беталаиновом и антоциановом окрашивании трансгенных тканей.

Исследование проводится при финансовой поддержке РФФИ (грант №20-016-00124).

8.36. ИССЛЕДОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БПК-БИОСЕНСОРА НА ОСНОВЕ ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫХ БАКТЕРИЙ *Paracoccus yevei* ВКМ В-3302

Козлова Т.Н., Юдина Н.Ю.

НИЦ "БиоХимТех", Тульский государственный университет, Тула
kozlovatatyana_1993@mail.ru

Применение нового подхода экспресс-оценки индекса биохимического потребления кислорода (БПК) с использованием биосенсоров на основе микроорганизмов, способных биоразлагать большое количество органических веществ, содержащихся в пробах воды, позволяет заметно ускорить анализ данного показателя по сравнению со стандартным методом.

Ранее разработанный БПК-биосенсор на основе бактерий *Paracoccus yevei* ВКМ В-3302 в виде свежевыращенной концентрированной биомассы (Абрамова Т.Н., Арляпов В.А., Юдина Н.Ю., 2017 г.) характеризуется высокими показаниями чувствительности, стабильности и сходимости результатов, но его применение затруднительно, поскольку усложняется процесс формирования биорецепторного элемента и повышаются трудозатраты на культивирование свежей культуры микроорганизмов. Процесс сублимационной сушки даёт возможность получить биоматериал для создания распознающего элемента сенсора в виде сухого препарата микроорганизмов длительного хранения. Поэтому актуальным является создание биосенсора на основе лиофилизированных бактерий *P. yevei* ВКМ В-3302 и проверка его чувствительности.

Для проведения измерений использовали кислородный датчик в комплексе с преобразователем БПК-термооксиметром "ЭКСПЕРТ-009". Были сформированы 5 рецепторных элементов с разной массовой долей сухих бактерий *P. yevei* (2,5 - 7,5 мг), иммобилизованных в диализную мембрану, в составе распознающего элемента биосенсора.

В результате было установлено, что БПК-биосенсор с 5 мг лиофилизированных микроорганизмов в рецепторном элементе характеризуется наиболее высокой чувствительностью и более длительным периодом функционирования биосенсора без замены распознающего элемента. Разработанный биосенсор на основе бактерий *P. yevei* в лиофилизированной форме не уступает по чувствительности биосенсору на основе тех же бактерий в виде свежесеквируемой суспензии клеток ($100 \cdot 10^{-5} \text{ c}^{-1}$ и $110 \cdot 10^{-5} \text{ c}^{-1}$, соответственно) и превосходит его по сходимости результатов (4,4% и 8,3%, соответственно) и экспрессности, что говорит о перспективности использования микроорганизмов в лиофилизированном виде в составе биосенсоров для определения БПК.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания № FEWG-2021-0013 (Биокаталитические платформы на основе клеток микроорганизмов, субклеточных структур и ферментов в сочетании с наноматериалами).

8.37. ВЛИЯНИЕ СИГНАЛЬНОГО ПЕПТИДА НА СЕКРЕЦИЮ БЕТА-ЦЕПЕЙ ГЛИКОПРОТЕИДНЫХ ГОРМОНОВ

Колесов Д.Э.¹, Синегубова М.В.¹, Даянова Л.К.^{1,2}, Орлова Н.А.¹, Воробьев И.И.^{1,2}

¹ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
52ru111@mail.ru

Аденогипофизарные гормоны - тиреотропный гормон (ТТГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) и лютеинизирующий гормон (ЛГ), а также плацентарный гормон хорионический гонадотропин (ХГ) широко используются в современной клинической практике при различных патологиях. Эти гормоны состоят из двух сильно гликозилированных субъединиц - альфа и бета. Общая для этих гормонов альфа-цепь, по-видимому, синтезируется клетками в избытке относительно различных бета-цепей и, в некоторых случаях, служит шапероном для фолдинга бета-цепей. Ранее в нашей лаборатории было обнаружено, что при получении ТТГ и ФСГ в СНО в среде наблюдается недостаток бета цепи, вне зависимости от используемых генетических конструкций. Мы предположили, что уровень биосинтеза бета цепей может быть понижен за счет субоптимального сигнального пептида природного гена. Для стабильных клеточных линий СНО, секретирующих ТТГ человека с гетерологичными сигнальными пептидами наблюдался повышенный в 3-4 раз уровень секреции гетеродимера и свободной бета-цепи, чем для нативного сигнального пептида.

Для изучения влияния сигнальных пептидов на уровни секреции бета-цепей гликопротеидных гормонов на основе ранее разработанной в лаборатории векторной плазмиды p1.1 с промотором фактора элонгации EF-1а китайского хомячка было создано 16 вариантов генетических конструкций, кодирующих ТТГ, ФСГ, ЛГ и ХГ в виде трицистронных экспрессионных кассет, содержащих открытые рамки считывания (ОРС) бета-цепи, альфа-цепи и дигидрофолатредуктазы, разделенные вирусными внутренними сайтами связывания рибосом (IRES) вируса энцефаломиокардита EMCV. Была использована такая схема генетической кассеты, при которой в первом цистроне располагалась открытая рамка считывания (ОРС) бета-цепи, во втором - ОРС альфа-цепи, в третьем - ОРС дигидрофолатредуктазы. Для каждого гормона создано по 4 конструкции, отличающихся сигнальным пептидом бета цепи. Этими конструкциями при помощи липосомального реагента GenJect-39 трансфицировали клетки СНО и определяли содержание гетеродимера в среде методом ИФА.

8.38. МОДИФИКАЦИЯ НАНОЧАСТИЦ ВИСМУТА ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ К РАКОВЫМ КЛЕТКАМ

Короткова Н.А.¹, Котельникова П.А.², Кабашин А.В.¹, Деев С.М.^{1,2}

¹НИЯУ "МИФИ", Москва

²Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
korotkovaha@yandex.ru

Уникальные свойства нанообъектов находят применение во многих областях науки, например, для диагностики и лечения онкологических заболеваний. При помощи различных модификаций поверхности наночастиц можно получать адресные многофункциональные агенты.

Висмут является самым тяжелым нерадиоактивным элементом, обладает высоким коэффициентом поглощения для широкого диапазона длин волн, особенно рентгеновских. Благодаря этим свойствам наночастицы висмута можно использовать в качестве сенсбилизатора для фототермической и лучевой терапии, фотоакустической визуализации, а также в качестве контрастирующего агента для компьютерной томографии. В воде и фосфатном буфере наночастицы висмута нестабильны, что ограничивает их применение. Покрытие висмута полимерами позволяет не только достигнуть стабильности в физиологических условиях, но сделать возможной конъюгацию с биомолекулами.

Исследуемые наночастицы висмута были получены методом лазерной абляции в НИЯУ МИФИ и хранились в ацетоне. Гидродинамический размер частиц определяли с помощью Zetasizer Nano ZS, экстинкцию - на спектрофотометре Tecan M1000Pro, поверхность и форму наночастиц - при помощи сканирующего электронного микроскопа. В ходе работы были опробованы покрытия наночастиц хитозаном и полиэтиленгликолем и изучена цитотоксичность полученных нанообъектов. Конъюгаты на основе модифицированного висмута и адресных белков оценивали на специфичное связывание с клетками с различной экспрессией HER-рецептора методом проточной цитометрии. В качестве нацеливающих лигандов использовали полноразмерное антитело Трастузумаб и каркасные белки: дарпин и аффибоди.

Полученные в результате работы стабильные наночастицы висмута, специфично связывающиеся с раковыми клетками, могут быть использованы для КТ-визуализации и онкотераностики.

8.39. ПОСТРОЕНИЕ МНОЖЕСТВЕННЫХ ВЫРАВНИВАНИЙ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ МЕТОДОМ MAHDS

Костенко Д.О.^{1,2}, Коротков Е.В.^{1,2}

¹НИИЯУ "МИФИ", Москва

²ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

dk0stenko@yandex.ru

Ранее нами был разработан метод MAHDS, который позволяет строить множественные выравнивания за время, линейно зависящее от количества последовательностей и квадратично от их средней длины. Данный метод показал, что он способен строить статистически значимые выравнивания последовательностей ДНК даже с количеством замен на символ равным $x = 4.4$. В то же время для других сравниваемых с MAHDS методов (T-Coffee, Muscle, ClustalW, MAFFT, Kalign) этот показатель составил $x < 2.5$.

Мы адаптировали MAHDS для выравнивания аминокислотных последовательностей. MAHDS сравнивался с методами T-Coffee, MUSCLE, PRANK, Clustal Omega, Kalign, MAFFT. Для оценивания качества выравниваний использовались критерии CS и Z. CS отражает меру сходства двух выравниваний (эталонного и оцениваемого), а Z - статистическую значимость выравнивания.

В ходе тестирования на BALiBASE считались средние значения CS и Z по выравниваниям всех белковых семейств, представленных в этой базе. Целью тестирования было не только сравнение MAHDS с другими методами, но выбор наиболее биологически адекватных параметров метода MAHDS (которые также влияют и на оценку Z). В рамках тестирования на BALiBASE в сравнении с другими методами MAHDS показал превосходство по Z, однако отставание по CS. Перед проведением дальнейших тестов по правилу 3 сигма был определён порог статистической значимости $Z_t = 10$.

Для тестирования на искусственных последовательностях из случайных последовательностей генерировались множества потомков путём внесения случайных вставок, делеций и замен (в итоговое множество предковая последовательность не входила). Было показано, что MAHDS способен строить статистически значимые выравнивания при расстоянии между выравниваемыми последовательностями $x = 4.8$ замен на символ. Из остальных протестированных методов MUSCLE показал наилучший результат $x = 2.4$, что существенно хуже, чем показатель MAHDS.

При тестировании на реальных белковых последовательностях мы построили выравнивания для 21 белкового семейства и оценили Z полученных выравниваний. Для 16 из 21 семейств MAHDS построил наиболее статистически значимые выравнивания (для других 5 семейств либо выравнивания всеми методами оказались значимыми, либо наоборот незначимыми также у всех методов). В то же время для 4 семейств (PF00915, PF10846, PF10895 и PF13944) только MAHDS оказался способен построить статистически значимое выравнивание.

8.40. ПОЛУЧЕНИЕ КОМПОЗИТНЫХ СКАФФОЛДОВ НА ОСНОВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ С ПОМОЩЬЮ РЕАКЦИЙ, АКТИВИРУЕМЫХ СВЕТОМ ИЗ ОКНА ПРОЗРАЧНОСТИ ТКАНИ

Кузьяева В.И.¹, Сочилина А.В.^{1,2}, Савельев А.Г.², Хайдуков Е.В.^{1,2}, Генералова А.Н.^{1,2}

¹Институт биоорганической химии им академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²Институт фотонных технологий ФНИЦ "Кристаллография и фотоника" РАН, Москва
kuzyaeva.valeriya@mail.ru

Одним из активно развивающихся направлений регенеративной медицины является тканевая инженерия, направленная на восстановление повреждённых тканей и органов посредством имплантации специальных конструкций, называемых скаффолдами. Актуальной задачей тканевой инженерии является создание биосовместимых гидрогелевых конструкций, которые должны в наибольшей степени имитировать свойства замещаемых тканей. Наиболее перспективным методом является формирование скаффолдов непосредственно в организме малоинвазивными способами. Одно из решений этой задачи связано с разработкой новых композиций и методов получения скаффолдов с помощью реакции фотоиндуцируемой сшивки, активируемой излучением, попадающим в окно прозрачности тканей. Многообещающим материалом для получения структурно-организованных скаффолдов является эндогенный полисахарид гиалуроновая кислота (ГК).

В данной работе для получения ГК, способной к фотоиндуцируемой сшивке, был использован способ химической модификации ГК глицидилметакрилатом для введения двойных связей, способных вступать в радикальную реакцию под действием света. Для активации процесса фотосшивки модифицированной ГК использовали в качестве фотоинициатора водорастворимое производное фталоцианина, активируемое излучением из красного диапазона видимого спектра, проходящего сквозь ткани организма. В качестве соинициатора использовали триэтаноламин или дитиотреитол, а также N-винилпирролидон и N-винилкапролактam в качестве сомономеров. Исследование физико-химических свойств скаффолдов, а также использование фантомной технологии, позволило определить условия управления механическими свойствами, степенью адгезии и биосовместимости к ткани, структурой сшитых гидрогелей для адаптации к свойствам мягкой ткани организма.

8.41. ГЛУБОКОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ РАЗНООБРАЗИЯ ПРИРОДНЫХ РЕПЕРТУАРОВ АНТИТЕЛ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ВАКЦИНАЦИИ СПУТНИК V И PFIZER

Малабуёк Д.М., Мокрушина Ю.А., Терехов С.С., Смирнов И.В., Овчинникова Л.А., Ломакин Я.А., Абрикосова В.А., Баранова М.Н.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
malabuoykd@mail.ru

Исследование природного биоразнообразия иммуноглобулинов человека является важной фундаментальной и практической задачей, поскольку репертуар нативных пар цепей человеческих антител является уникальным резервуаром для открытия потенциально терапевтических препаратов на основе антител. Разработка экспресс-технологии для широкомасштабного скрининга антител человека против зоонозных вирусных инфекций особо актуально в современных условиях распространения новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2, поскольку было неоднократно доказано, что вакцинация является основным методом борьбы и предотвращения развития инфекционных заболеваний, благодаря выработке высокоспецифичных антител в ответ на вакцину. Сочетание классического подхода дисплейных технологий и новой парадигмы компарментализация единичных клеток в отдельных каплях микроэмульсии позволило провести глубокое профилирование разнообразия природного репертуара антител человека. В данной работе были отображены высокоаффинные антитела в результате анализа данных секвенирования, реконструированы одноцепочечные вариабельные фрагменты антител в полномразмерном формате антител класса IgG1, проанализирован уровень вируснейтрализующей активности в отношении SARS-CoV-2 на основе безопасных псевдотипированных вирусных частиц и пула клеток, гиперэкспрессирующих ACE2, определена эффективность взаимодействия антител с RBD-доменом методом поверхностного плазмонного резонанса, проведены доклинические исследования, результатом которых являлось обеспечение полного выживания трансгенных мышей hACE 2+ в летальных моделях инфекции SARS-CoV-2 как для вариантов WT, так и для вариантов Omicron.

8.42. ПОЛУЧЕНИЕ СОРБЕНТОВ ИЗ БИОМАССЫ МЕТОДОМ ГИДРОТЕРМАЛЬНОГО ОЖИЖЕНИЯ И АНАЛИЗ ИХ СОРБЦИОННЫХ СВОЙСТВ

Муравьева Н.А., Куликова Ю.В., Бабич О.О.

НОЦ "Промышленные биотехнологии" БФУ им. И. Канта, Калининград
natahlie98@gmail.com

Проблема сточных вод во всем мире постоянно усугубляется. Характер загрязнения воды носит в основном антропогенный характер. Такая вода содержит в себе значительную часть вредных веществ, которые могут попасть в окружающую среду и, таким образом, нанести ей непоправимый вред.

Одним из возможных способов очистки является использование сорбентов. Их используют после механической очистки воды от грубодисперсных примесей. Для очистки сточных вод могут использоваться сорбенты: активированный уголь, глинистые породы, цеолиты, неорганические и органические иониты.

Многообещающим способом получения углеродных сорбентов является метод гидротермического ожигения биомассы растений. Этот метод применяется для получения синтетической нефти из биомассы и органических отходов, а образующийся твердый остаток обладает сорбционными свойствами. Суть метода заключается в использовании высокой температуры (порядка 250-380°C) и давления (4-25МПа), что приводит к переходу воды в субкритическое состояние, при этом она начинает обладать уникальными свойствами суперрастворителя и источника свободных радикалов. Метод по сути моделирует геологические процессы синтеза нефти.

Для получения нефти и сорбентов биомасса растений, водорослей или органические отходы без предварительного кондиционирования и сушки направляются в реактор. Реактор автоклав периодического действия работает при температуре 290°C и давлении 5 МПа. Через 20 минут пульпа направляется на многостадийное разделение с отделением твердой фазы, нефтепродукта и воды.

После извлечения твердого осадка, он высушивается и может использоваться в качестве сорбента. В рамках исследования проведена оценка размера и объема макро, мезо и микропор. Установлена сорбционная емкость по йоду, красителю и фенолу. Обоснованы направления повышения сорбционных свойств получаемых углей. Установлен характер кривой адсорбции. Выданы практические технологические рекомендации по применению получаемого сорбента.

8.43. ДЕГРАДАЦИЯ МЕТАЛЛ-ОРГАНИЧЕСКИХ ЧАСТИЦ NH₂_MIL-101(CR) В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

Норец К.Д.^{1,2}, Грязнова О.Ю.^{2,3}, Зеленукин И.В.^{1,2}, Деев С.М.^{1,2}

¹НИЯУ "МИФИ", Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

³Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ, Москва

kdnorets@gmail.ru

Металл-органические каркасные структуры (МОКС) представляют собой соединения с крайне высокой пористостью поверхности, состоящие из атомов многовалентных металлов или их кластеров, упорядоченно соединенных между собой органическими молекулами. Такие свойства МОКС, как большая площадь поверхности и регулируемая структура пор, делают их одними из самых многообещающих материалов для потенциальных применений, в том числе для доставки лекарств и визуализации клеток [1].

Наночастицы (НЧ) металл-органических каркасных структур типа NH₂_MIL-101, кристаллическая решетка которых состоит из трехвалентного Cr или Al и аминотерефталевой кислоты, относятся к перспективным МОКС в силу их мезопористой структуры, высокой площади поверхности и хорошей гидротермальной устойчивости. Однако существует не так много исследований кинетики и механизма их деградации НЧ в физиологических условиях. В то время как эти процессы определяют биологическую судьбу НЧ после их внутривенного введения. С одной стороны, НЧ должны обладать достаточной стабильностью при циркуляции в кровотоке, чтобы доставить лекарство к мишени, не допустив раннего высвобождения нагрузки. С другой стороны, они должны деградировать в физиологической среде, чтобы высвободить лекарство. В связи с этим при применении наночастиц металл-органических каркасных структур типа NH₂_MIL-101 на основе трехвалентных Cr или Al для доставки лекарств и визуализации клеток необходимо соблюдать баланс между стабильностью и биodeградацией. Такой подход требует глубокого понимания механизмов, которые участвуют в деградации МОКС.

В данной работе НЧ NH₂_MIL-101(Cr) и (Al) были получены гидротермальным методом синтеза. Была изучена кинетика деградации данных наночастиц *in vitro* в изотоническом натрий-фосфатном буфере pH 7,4 в течение трех недель.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФ № 21-74-10058.

Литература

1. Zu-Jin Lin, Jian Lu², Maochun Hong and Rong Cao. Metal-organic frameworks based on flexible ligands (FL-MOFs): structures and applications. Chem. Soc. Rev. 2014, 43, 5867-5895.

8.44. ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОЙ ДЕПОЛИМЕРАЗЫ БАКТЕРИОФАГА vB_KPNP-KLYAZMA

Оснач В.А.¹, Шабалина А.В.¹, Городничев Р.Б.², Шитиков Е.А.²,
Долгова А.С.¹

¹НИИ эпидемиологии и микробиологии им Пастера, Санкт-Петербург

²ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России, Москва

Osnach.Veronika@yandex.ru

Штаммы *Klebsiella pneumoniae* демонстрируют большое разнообразие капсульных типов (около 80 типов), каждый из которых имеет различный полисахаридный состав. Известно, что многие бактериофаги *K. pneumoniae* нацелены на капсульный экзополисахарид в качестве первичного рецептора. Высокая специфичность бактериофагов обусловлена их рецептор-связывающими белками. Данные белки, как правило, специфичны для одного капсульного серотипа и проявляют деполимеразную активность, активно связывая и разрушая капсулу. Таким образом, капсульные деполимеразы являются многообещающими противомикробными соединениями.

В настоящей работе последовательность гена деполимеразы была амплифицирована из геномной ДНК бактериофага vB_KpnP-Klyazma, специально подобранными праймерами. Данная деполимераза была наработана методом ПЦР и заклонирована в экспрессионный вектор pGD. Последовательность была проверена методом секвенирования. Для экспрессии деполимеразы Klyazma были использованы 2 коммерческих штамма клеток: T7 express и BL21. Индукция проводилась в разных условиях: сначала была рассмотрена 3-х часовая индукция с 0.5мМ IPTG, затем 18-часовая при нескольких температурах - 16 и 20 градусах, с 0.1мМ IPTG. Лизис белка проводили 3-мя циклами замораживания-оттаивания, с последующим добавлением смеси лизоцима с ДНКазой и РНКазой. Очистку производили набором His-Spin Protein Miniprep (Zymo Research). Экспрессия белка была проверена с помощью белкового электрофореза. Ферментативная активность была проверена с помощью точечного теста (spot-test) на чашках Петри на 2-х штаммах *K. pneumoniae* с разными капсульными типами - специфичном (KL20) и не специфичном (KL81) для данной деполимеразы.

В результате проделанной работы, был получен рекомбинантный белок - деполимераза бактериофага vB_KpnP-Klyazma. Были подобраны оптимальные условия индукции: 18-часовой индукция с добавлением 0.1мМ IPTG. По результатам электрофореза, было выявлено, что, из рассмотренных коммерческих штаммов клеток, рекомбинантный белок экспрессируется только в T7 express клетках. Белок обладает ферментативной активностью и специфичностью.

8.45. ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТНЫХ ФОРМ РЕКОМБИНАНТНОГО ПЫЛЬЦЕВОГО АЛЛЕРГЕНА ОЛЬХИ *Aln g 1*

Потанов А.Е.^{1,2}, Мельникова Д.Н.^{1,2}, Богданов И.В.¹, Овчинникова Т.В.^{1,2}

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный
azotic2000@gmail.com

Гомологи *Bet v 1* представляют собой важный класс липид связывающих растительных аллергенов. Данные белки присутствуют как в различных пищевых продуктах растительного происхождения, так и в пыльце трав и деревьев и являются причиной развития перекрестных аллергических реакций различной степени тяжести. Образование комплексов аллерген-липид может приводить к изменению физико-химических свойств, аллергенного потенциала и сенсibiliзирующей способности данных белков. Изучение структурных особенностей гомологов *Bet v 1* и механизмов взаимодействия их липидными лигандами откроет путь к исследованию молекулярных и клеточных механизмов развития сенсibiliзации организма к растительным аллергенам.

В качестве объекта исследования был выбран главный аллерген из пыльцы ольхи - *Aln g 1*. Основной задачей работы было введение точечных мутаций в структуру аллергена с целью дальнейшего изучения их влияния на способность *Aln g 1* связывать липидные лиганды и IgE. В структуре *Aln g 1* с помощью сайт-направленного мутагенеза были произведены замены на аланин следующих аминокислот: D27, L30, D125. Мутагенез был выполнен с применением двух праймеров на ген *Aln g 1* и двух специфичных олигонуклеотидных праймеров, один из которых содержал точечные замены. Гены, кодирующие *Aln g 1* с точечными заменами, лигировали с вектором рЕТ-His8-TrxL для экспрессии мутантных белков в клетках *E. coli* BL21(DE3). Клетки культивировали в среде LB с 20 мМ глюкозы и 100 мкг/мл ампициллина при температуре 37°C. Индукцию экспрессии гибридного белка проводили добавлением в питательную среду 0,2 мМ изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозид. Целевые мутантные аналоги *Aln g 1* DL2730AA и D125A были получены в результате последовательных операций выделения гибридных белков His8-TrxL-*Aln g 1* (DL2730AA) и His8-TrxL-*Aln g 1*(D125A) из растворимой клеточной фракции методом аффинной хроматографии, отщепления белка-партнера бромцианом, повторной металлохелатной хроматографии и финальной стадии очистки методом обращённо-фазовой ВЭЖХ. Гомогенность полученных рекомбинантных аналогов *Aln g 1* DL2730AA и D125A была подтверждена с использованием методов MALDI-TOF масс-спектрометрии и SDS-электрофореза в ПААГ.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ (проект № 20-45-05002).

8.46. МОДИФИКАЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ ДИАТОМОВЫХ ВОДОРОСЛЕЙ ПОРИСТЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ

Похорукоев Д.А.¹, Грязнова О.Ю.^{1,2,3}, Деев С.М.^{1,2}

¹НИЯУ "МИФИ", Москва

²Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

³Сколковский институт науки и технологий, Москва
pda021@campus.mephi.ru

Диатомовые водоросли - группа одноклеточных водорослей, отличающаяся наличием твердой пористой кремниевой оболочки. Данную оболочку, называемую фрустулой, возможно модифицировать методами нанотехнологий. Благодаря способности выживать в неблагоприятных условиях, наличию поровых структур и общедоступности методов культивирования, сбора образцов и дальнейшей обработки культуры диатомовые водоросли являются идеальным клеточным механизмом для производства разнообразных промышленных продуктов, например: хризоламинарина, тимнодоновой кислоты, фукоксантина, прекурсоров биопластиков [1, 2].

Дополнительное увеличение выживаемости диатом позволит расширить спектр возможных применений, упростить условия содержания. Предлагается разработать метод увеличения выживаемости диатомовых водорослей с помощью покрытия фрустул наночастицами, в особенности металл-органическими каркасными структурами, продемонстрировавшими способность к реактивации абсорбционных свойств фрустул [3]. Взаимодействие между пористой оболочкой и покрывающими наночастицами может выражаться в изменении размеров пор, уровня потребления кислорода и механизма рассеивания УФ-излучения.

Литература

1. Yang, R, Wei D., Xie J. Diatoms as cell factories for high-value products: chrysolaminarin, eicosapentaenoic acid, and fucoxanthin. // *Critical Reviews in Biotechnology*. - 2020. - 40:7, 993-1009.
2. Butler T., Kapoore R.V., Vaidyanathan S., Phaeodactylum tricornutum: A Diatom Cell Factory // *Trends in Biotechnology*. - 2020. - 38:6, 606-622.
3. Liu D. et al. Metal-Organic Frameworks Reactivate Deceased Diatoms to be Efficient CO₂ Absorbents. // *Advanced materials*. - 2014.

8.47. ТРАНСКРИПТОМНО-ОПОСРЕДОВАННЫЙ ДИЗАЙН ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ГЕН-ИММУННЫХ ПРЕПАРАТОВ

*Ракитина О.А.¹, Кузьмич А.И.^{1,2}, Дидыч Д.А.¹, Кондратьева С.А.¹,
Безбородова О.А.¹, Плешкан В.В.^{1,2}, Сасс А.В.¹, Алексеенко И.В.^{1,2}*

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва;

²НИЦ "Курчатовский институт", Москва
rakitinaolga97@gmail.com

Одним из активно развивающихся направлений противоопухолевой терапии является ген-иммунная терапия, нацеленная на активацию противоопухолевого иммунного ответа (ПИО). Похожая активация ПИО при терапии ингибиторами иммунных контрольных точек (ИКТ) нередко способна приводить к полной ремиссии пациентов. Для активации противоопухолевого иммунитета, помимо ингибиторов ИКТ, могут использоваться различные иммуноактиваторные (ИА) молекулы, к которым относятся, например, ко-стимуляторы активации Т клеток (ОХ40L, 4-1BBL и др.) и цитокины (IL2, IL7 и др.). Выбор мишеней ген-иммунной терапии может осуществляться с помощью транскриптомного анализа, позволяющего сузить круг потенциальных мишеней с тысяч до десятков. Целью данной работы было выбрать гены, использование которых в контексте ген-иммунной терапии способно приводить к выраженному терапевтическому эффекту на модели мышинных опухолей СТ26. Нами был проведен анализ транскриптомов раковых и иммунных клеток, выделенных из опухолей СТ26, в результате которого были отобраны несколько генов ИА, продукты которых потенциально способны оказывать выраженное противоопухолевое действие (IL7, ОХ40L и др.). Был изучен эффект стабильной экспрессии выбранных генов прививаемыми раковыми клетками на рост опухолей СТ26. Такая экспрессия генов ИА существенно подавляла рост опухолей СТ26, в опытных группах наблюдалась отложенная резорбция опухолей. Также был изучен эффект использования выбранных генов на рост опухолей СТ26 в контексте невирусной ген-иммунной терапии. Использование IL7 и ОХ40L в контексте ген-иммунной терапии оказало существенный эффект на рост опухолей СТ26 - медиана выживаемости животных по сравнению с контрольной группой для обеих групп увеличилась на 25%, увеличение продолжительности жизни составило 27.4% (IL7) и 24% (ОХ40L), торможение роста опухоли через 10 дней после окончания лечения составило 77.4% (IL7) и 70% (ОХ40L). Таким образом, в ходе работы с помощью транскриптомного анализа были выбраны гены, использование которых в контексте ген-иммунной терапии способно приводить к выраженному терапевтическому эффекту.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-15-00483, <https://rscf.ru/project/22-15-00483/>.

8.48. АНАЛИЗ ГЕНОМОВ Y-ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ, СОБРАННЫХ *DE NOVO* НА ОСНОВЕ ДАННЫХ РНК-Seq РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ ИЗ МОСКОВСКОЙ И АСТРАХАНСКОЙ ОБЛАСТЕЙ РФ

Самарская В.О.¹, Грызунов Н.С.², Спеченкова Н.А.¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
viktoriya.samarskaya2012@yandex.ru

Y вирус картофеля (YVK) является одним из наиболее опасных и экономически значимых вирусных патогенов картофеля. YVK демонстрирует типичную для РНК-содержащих вирусов способность изменяться за счёт накопления мутаций и более быстро, за счёт рекомбинаций между различными штаммами. В природе YVK существует в виде комплекса штаммов. Для создания средств защиты растений нового поколения, основанных на применении РНК-технологий, в настоящей работе изучены особенности изменчивости генома YVK в различных условиях произрастания. В связи с этим была проведена сборка *de novo* генома YVK на основании данных РНК-Seq листового материала растений картофеля двух сортов (Индиго и ЛаСтрада), выращенных в поле из оздоровленного безвирусного посадочного материала в Московской и Астраханской областях, контрастных по климатическим условиям (прежде всего по температуре окружающей среды).

С помощью различных программ было собрано 77 полноразмерных контигов YVK. Выравнивание показало, что собранные *de novo* контиги в рамках одного сорта и одного региона практически идентичны. Для дальнейшего анализа использовали 4 репрезентативных контига, собранных программой gnaviralSPAdes, с открытой рамкой считывания длиной 9186 нт, кодирующей полипептид-предшественник вирусоспецифических белков YVK длиной 3062 а.о. Выравнивание по нуклеотидной и аминокислотной последовательностям показало, что большая часть отличий между астраханскими и московскими контигами сконцентрирована в 5' концевом участке генома длиной около 500 нт (5' НТО и участок генома, кодирующий N-конец белка Р1 из 101 а.о.). Выравнивание с типичными "родительскими" вариантами YVK показало, что геномы состоят из секций штаммов YVK⁰ и YVK^{Eu-N}, причем астраханские варианты имеют организацию, типичную для рекомбинантных геномов типа NTNb, а московские варианты - типа NTNa. Вариант YVK, выявленный на обоих сорта картофеля в Астраханской области, является новым, ранее не описанным в литературе рекомбинантом YVK.

8.49. ДОСТАВКА НАНОЧАСТИЦ В КЛЕТКИ С ПОМОЩЬЮ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИТОХОНДРИЙ

Синицына А.П.¹, Иванов И.Н.^{1,2,3}, Зелепукин И.В.^{1,3}, Шипунова В.О.^{1,3,4}, Деев С.М.^{1,3}

¹НИЯУ "МИФИ", Москва

²РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва

³Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

⁴Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный
anastasi212@rambler.ru

Наночастицы (далее нч) являются перспективным средством тераностики. Одним из препятствий для их применения в медицине является недостаток способов доставки наноматериалов в ткани органов. Нами был разработан новый способ доставки нч с применением изолированных митохондрий. Использование митохондрий обусловлено их естественным присутствием в кровотоке млекопитающих.

Митохондрии извлекались из печени мыши методом гомогенизации тканей с последующим центрифугированием. Их целостность была подтверждена с использованием сканирующего электронного микроскопа. Проводилась проверка жизнеспособности изолированных митохондрий путём их окрашивания флуоресцентным красителем Rhodamine 123 и наблюдения снижения относительной флуоресценции при добавлении субстратов дыхательной цепи с АДФ и её увеличения при добавлении ингибиторов мембранных комплексов. Это служит подтверждением жизнеспособности полученных митохондрий. Была проверена возможность доставки нч на поверхности митохондрий в клетки *in vitro*. Они были окрашены флуоресцентными нч и инкубированы с клетками карциномы человека и мыши. Активное проникновение комплекса митохондрий с нч внутрь клетки показано с помощью конфокальной микроскопии. Для доставки выбраны нч из сополимера молочной и гликолевой кислот, модифицированные хитозаном. Таким образом, покрытие изолированных митохондрий нч является новым инструментом доставки наноматериалов внутрь клеток, что снижает лекарственную нагрузку на организм.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 21-74-30016.

Литература

1. Frezza C., Cipolat S., Scorrano L. Organelle isolation: functional mitochondria from mouse liver, muscle and cultured fibroblasts //Nature protocols. - 2007. - Т. 2. - №. 2. - С. 287-295.
2. Baracca A. et al. Rhodamine 123 as a probe of mitochondrial membrane potential: evaluation of proton flux through F₀ during ATP synthesis //Biochimica et biophysica acta (BBA)-bioenergetics. - 2003. - Т. 1606. - №. 1-3. - С. 137-146.
3. Shipunova V.O. et al. PLGA Nanoparticles decorated with anti-HER2 affibody for targeted delivery and photoinduced cell death //Molecules. - 2021. - Т. 26. - №. 13. - С. 3955.

8.50. 3D-МОДЕЛИ ОПУХОЛЕЙ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ ТЕРАНОСТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ *IN VITRO*

Согомонян А.С.^{1,3}, Котельникова П.А.¹, Шилова О.Н.¹, Шипунова В.О.^{1,4},
Звягин А.В.^{1,2}, Деев С.М.^{1,3}

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ, Москва

³НИЯУ "МИФИ", Москва

⁴Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный
annasogomonyan2012@mail.ru

Одним из вопросов при разработке новых противоопухолевых препаратов является выбор модели для проверки таких агентов. Традиционные методы тестирования основаны на применении опухолевых клеток, растущих в среде или на плоской поверхности, однако эти модели дают упрощенное представление о биологии опухоли и не позволяют предсказать эффективность препарата в организме. Модели, основанные на спонтанных или перевиваемых опухолях лабораторных животных, более адекватны, но также более дорогие и не дают учесть межвидовые различия организмов. Переходным звеном от клеток к животным могут стать 3D-модели, воспроизводящие рост опухоли в объеме и позволяющие учесть взаимодействие опухолевых клеток со стромой и внеклеточным матриксом.

В данной работе для создания таких моделей были использованы сфероиды раковых клеток, полученные в формах из агарозного геля [1,2]. Проведено сравнение роста и морфологии сфероидов 4 клеточных линий с различным уровнем экспрессии онкомаркеров и со стабильной цитоплазматической экспрессией флуоресцентных белков *Katushka* и *iRFP*. Флуоресцентный сигнал может быть использован для оценки размеров, роста и жизнеспособности сфероидов, что позволяет отслеживать эффекты различных агентов в динамике. На созданных 3D-моделях исследовали токсичность химиотерапевтических агентов, а также адресных рекомбинантных белков в сравнении с двумерными культурами клеток. Полученные 3D-модели опухолей со сверхэкспрессией онкомаркера *HER2* могут быть применены для тестирования адресных противораковых агентов *in vitro*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФ № 21-74-30016.

Литература

1. Sogomonyan A.S. et al. 3D Models of Cellular Spheroids as a Universal Tool for Studying the Cytotoxic Properties of Anticancer Compounds *In Vitro* // *Acta Naturae*. - 2022. - Т. 14. - №. 1. - С. 92.
2. Shipunova V.O. et al. Targeting Cancer Cell Tight Junctions Enhances PLGA-Based Photothermal Sensitizers' Performance *In Vitro* and *In Vivo* // *Pharmaceutics*. - 2021. - Т. 14. - №. 1. - С. 43.

8.51. ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА МАЛОУГЛОВОГО РЕНТГЕНОВСКОГО РАССЕЯНИЯ ДЛЯ КОНТРОЛЯ САМОСБОРКИ БЕЛКОВЫХ НАНОЧАСТИЦ

Сударев В.В.¹, Рижиков Ю.Л.^{1,2}, Гетте М.С.¹, Баженов С.В.^{1,3}, Манухов И.В.^{1,3,4}, Куклин И.А.^{1,2}, Власов А.В.^{1,2}

¹Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

²ОИЯИ, Дубна

³НИУ "Высшая школа экономики", Москва

⁴Московский государственный университет пищевых производств, Москва
Sudarev.vv@phystech.edu

Ферритин является одним из основных железосодержащих белков, встречающихся в большинстве живых организмов. Его уникальным свойством является самопроизвольное формирование глобулярной структуры из 24 одинаковых субъединиц [1]. Это свойство активно используется в биотехнологии при производстве различных лекарственных препаратов, представляющих собой наночастицы на основе ферритина. В частности, подобный подход используется при создании химерных белковых вакцин [1]. Контроль результата самосборки белковых комплексов является ключевой задачей при разработке подобных конструкций. При различных модификациях белка возможно возникновение олигомеров из "тупиковых" ветвей процесса самосборки (например, октамера [1]), которые мешают полноценной сборке комплекса. Обычно для контроля результата самосборки используется просвечивающая электронная микроскопия. Мы показали, что метод малоуглового рентгеновского рассеяния также является эффективным средством для решения данной задачи.

В работе рассмотрен ряд химерных белковых конструкций на основе ферритина с различными модификациями субъединиц, затрудняющими процесс самосборки. Методом малоуглового рентгеновского рассеяния получены 3D структуры низкого разрешения и радиусы гирации исследуемых белков. Полученные данные позволили охарактеризовать олигомерное состояние белковых комплексов. Таким образом подтверждено получение как октамеров, так и икоситетрамерных глобул (из 24 субъединиц) белка в каждом отдельном случае.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение 1022060200069-0-1.6.2; 1.6.4; 1.6.5; 1.6.10; 1.6.19, "Разработка технологии рационального и высокопродуктивного использования агро- и биоресурсов, их эффективной переработки и получения безопасных и качественных источников пищевых и непищевых продуктов").

Литература

1. Sudarev V. et al. Ferritin self-assembly, structure, function, and biotechnological applications // International Journal of Biological Macromolecules - 2022, accepted for publication.

8.52. РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ БЕЛКА Cas9 НА ПОВЕРХНОСТИ AAV-ВЕКТОРА

Таран Ю.А.

Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью ФМБА России, Москва
taran.julia01@gmail.com

Одним из перспективных подходов к излечению ВИЧ-инфекции является выключение экспрессии гена CCR5 рецептора в клетках-мишенях ВИЧ с одновременным встраиванием в геном одного или нескольких противовирусных факторов. Использование системы CRISPR/Cas позволяет целевым образом внести двуцепочечный разрыв в ген CCR5, а добавление донорной ДНК с трансгеном обеспечить его интеграцию в место повреждения. Эффективный способ доставки донорной ДНК - доставка с помощью векторов на основе аденоассоциированных вирусов (AAV). Однако проблемой такого подхода является синхронизация доставки в клетку AAV и Cas/gRNA комплекса.

Для решения проблемы мы решили прикрепить Cas9 к частицам AAV, используя ковалентное взаимодействие пептидов SpyCatcher/SpyTag. Последовательность SpyCatcher присоединили к N-концу Cas9 и показали, что полученный белок полностью сохраняет нуклеазную активность. Последовательность SpyTag встраивали в последовательность гена CAP, кодирующую все капсидные белки в двух вариантах: после аминокислотного остатка 381 или после остатка 453. Использование модифицированных плазмид CAP для сборки давало частицы AAV-mCAP, в которых SpyTag присутствовал в каждом из трех капсидных белков VP1-VP3. Кроме того, были сделаны плазмиды VP3-SpyTag (381 или 453), кодирующие отдельно белок VP3 с пептидом SpyTag в одной из тех же позиций. При сборке векторов плазмиду VP3-SpyTag добавляли к немодифицированной плазмиде CAP в соотношении 1:1, получая химерные AAV-chim, в которых были модифицированы только часть VP3-белков. Оказалось, что инфекционный титр AAV-mCAP-векторов, на несколько порядков ниже титра AAV-chim векторов, поэтому в дальнейшей работе их не использовали. Для оценки связывания AAV-chim и Cas9, AAV-chim (381 или 453) и Cas9-SpyCatcher, экспрессированный в *E.coli*, смешивали в разных соотношениях, инкубировали и анализировали с помощью вестерн-блота. Эффективное связывание наблюдали при добавлении от 15 до 25 нг Cas9-SpyCatcher к 9×10^7 инфекционных частиц AAV-chim453, остальные варианты оказались неэффективны.

Таким образом, нами предложен перспективный вариант вектора AAV-chim453, позволяющий связывать Cas9-SpyCatcher и, таким образом, одновременно доставлять в клетку нуклеазу и донорную ДНК. В дальнейшем данную конструкцию необходимо изучить с точки зрения эффективности редактирования.

8.53. СВЕТЯЩИЕСЯ РАСТЕНИЯ КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОФАБРИКИ ПО ПОЛУЧЕНИЮ БЕЛКОВ ДЛЯ ВАКЦИН

Тихонова П.Е.¹, Нежданова А.В.²

¹ГБОУ Школа № 1861 "Загорье", Москва

²ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

polina.tikhonova626@gmail.com

Светящиеся растения-это продукт, созданный биотехнологами в результате генной трансформации агробактериями. Растения выступают в роли "природного предприятия", где вместо рабочих трудятся компоненты клеток: полимеразы, нуклеиновые кислоты, рибосомы, тРНК и другие, для того, чтобы производить нужный нам белок. Так почему же именно растения? Во-первых, в растительных тканях нет риска загрязнения рекомбинантного белка вирусами животных и прионами. Во-вторых, растительные клетки обеспечивают правильную модификацию рекомбинантного белка, характерную для эукариотических клеток. В-третьих, простота, время и стоимость.

Явление флуоресценции нужно как некий маркер для того, чтобы посмотреть, прошла ли модификация или нет. К нужному нам гену подсаживается флуоресцентный белок GFP. Для того, чтобы растение начало производить нужный нам белок, производится транзientная экспрессия ДНК. Этот вид экспрессии наиболее эффективен при наработке белков.

Работа заключается в том, чтобы апробировать метод агроинфильтрации растений для получения транзientной экспрессии, которые будут производить белки, нужные для создания вакцин.

8.54. АДАПТАЦИЯ ПРОТОКОЛОВ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ ВАРИАНТОВ КОРОНАВИРУСА SARS-Cov-2 ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НОВЫХ ШТАММОВ

Чистякова А.К.^{1,2}, Степанова Е.А.¹, Исакова-Сивак И.Н.¹, Руденко Л.Г.¹

¹Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,

Санкт-Петербург

anna.k.chistiakova@gmail.com

Актуальность. Высокие темпы изменчивости коронавируса SARS-Cov-2, являющегося причиной продолжающейся пандемии COVID-19, диктуют необходимость разработки систем детекции различных вариантов коронавируса, которые возможно быстро и эффективно адаптировать для текущей эпидемиологической обстановки. Ранее мы разработали протоколы, позволяющие осуществлять генотипирование различных вариантов коронавируса методом пиросеквенирования с помощью прибора RuгоMark Q24. Генотипирование основано на определении последовательности полиморфных участков гена S-белка коронавируса в образце. В связи с появлением и массовым распространением в циркуляции новых вариантов вируса SARS-CoV-2, возникла необходимость адаптации разработанных ранее протоколов для определения дополнительных замен в S-гене.

Методы. В данной работе были использованы образцы коронавирусов SARS-CoV-2, являющиеся вызывающими беспокойство вариантов (VOC, variant of concern) коронавируса (альфа, бета, гамма, дельта, омикрон). Образцы вирусов получены на клеточной культуре Vero. В качестве отрицательного контроля использовали РНК образцов мазков из носоглотки человека, не содержащего материала коронавируса. Пробоподготовку производили по стандартному протоколу (выделение РНК, ОТ-ПЦР, пробоподготовка к пиросеквенированию по протоколу RuгоMarkQ24). Комплекты олигонуклеотидов и протоколы для RuгоMark были разработаны для данного исследования.

Результаты. Разработанная нами ранее система генотипирования вариантов коронавируса была адаптирована для более эффективного генотипирования новых появившихся в циркуляции вариантов. Были подобраны и апробированы праймеры, обновлены в связи с новыми условиями протоколы для пиросеквенирования, которые позволяют определять последовательность нуклеотидов на кодирующих наиболее функционально значимые аминокислотные замены у разных вариантов коронавируса участках. В результате созданные нами протоколы пиросеквенирования фрагментов S-гена SARS-CoV-2 с помощью прибора RuгоMark Q24 были адаптированы для текущей эпидемиологической обстановки.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ № 21-75-30003.

8.55. ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА АЭРОБНЫХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ПОЧВЫ В ПРИСУТСТВИИ ПЛАСТИКОВЫХ ОТХОДОВ

Ширинкина Л.И., Тактарова Ю.В., Клюкина А.А., Панова Т.В., Котова И.Б.

МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
lishirinkina@gmail.com

Разработка эффективного биопрепарата для ремедиации загрязненной пластиком среды требует подбора активных микробных сообществ с высокой способностью к деградации полимеров. Целью работы было изучение адаптивных изменений состава аэробных микробных сообществ почвы при контакте с бытовыми пластиками. Для эксперимента использовали микробные сообщества из почвы для благоустройства парка (БП) и почвы компостной кучи (КК). Опыт проводили во флаконах с 100 мл минеральной среды и бытовыми пластиками: полипропиленом (ПП), полиэтилентерефталатом (ПЭТ), полиэтиленом высокого давления (ПВД) и полистиролом (ПС), которые инкубировали на орбитальном шейкере 160 об/мин при 30°C. Убыль массы пластика определяли гравиметрическим методом, а структурные изменения полимеров - с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК). На 630-е сутки инкубации зарегистрирована статистически достоверная убыль массы ПВД (3%) в сообществе КК. Результаты ДСК для ПП и ПЭТ в сообществе БП показали такие признаки изменения состояния полимеров, как снижение степени кристалличности и температуры плавления. Образец ПС характеризовался наиболее активным микробным обрастанием.

По данным NGS-профилирования в исходном сообществе БП домен *Bacteria* представлен 26-ю таксономическими группами с преобладанием бактерий родов *Sphingomonas* (36,9%), *Escherichia-Shigella* (6,0%) и *Acinetobacter* (4,5%). На 220 сут инкубации БП с ПП число групп упало до 13 с доминированием членов родов *Ralstonia* (47,4%), *Sphingomonas* (11,7%), *Pseudoaminobacter* (9,1%) и *Aminobacter* (5,1%). В том же сообществе с ПЭТ разнообразие сократилось до 2 групп бактерий родов *Curvibacter* (94,4%) и *Ralstonia* (1,3%).

В исходном сообществе КК среди 7-ми групп доминировали бактерии родов *Ralstonia* (77,4%) и *Bordetella* (5,5%). В сообществе КК с ПВД выявлены только 2 группы родов *Pseudomonas* (93,9%) и *Limnobacter* (1%), а при контакте с ПС - 14 групп с преобладанием *Cohnella* (37,2%), *Rhodococcus* (15,5%) и *Bacillus* (7,6%). Члены домена *Archaea* выявлены только в исходном сообществе КК (класс *Bathyarchaeia*, 0,0088%) и в сообществе БП с ПП (сем. *Nitrososphaeraceae*, 0,0085%).

Таким образом, контакт с пластиковыми отходами приводит к значительным изменениям в структуре микробных сообществ почвы. Дальнейшее изучение доминирующих штаммов поможет понять пути повышения активности этих сообществ по отношению к пластикам.

8.56. ПОЛУЧЕНИЕ МЕТАЛ-СОДЕРЖАЩИХ ГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА МЕТОДОМ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО ТЕРМОИНДУЦИРОВАННОГО РАЗДЕЛЕНИЯ ФАЗ

Шмакова А.Э.¹, Вихров А.А.²

¹НИЯУ "МИФИ", Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
alisa.shmakova01@mail.ru

В настоящее время метал-содержащие гели используются для решения различных задач в области экологии (биосорбенты для удаления загрязнителей и компоненты датчиков и сенсоров), медицине (заживляющие и гемостатические материалы), в химическом синтезе (катализаторы), мягкой робототехнике и т.д., и т.п. Для реализации некоторых задач требуются прозрачные гели. Подобные гели, как правило, характеризуются нанопористой, нанопористой структурой с развитой внутренней поверхностью, а также повышенной механической прочностью.

В нашей работе впервые было показано, что метод низкотемпературного термоиндуцированного разделения фаз в условиях, исключающих замерзание растворителя [1], обеспечивает формирование метал-содержащих гелей не только с использованием водо-спиртового растворов гидрохлорида хитозана, содержащих CuCl_2 , но и с использованием растворов данного полисахарида на основе водо-спиртовых растворов FeCl_3 и AlCl_3 . В работе использовали хитозан с ММ 90-120 кДа, СД 85%. Было установлено, что оптические свойства получаемых гелей можно регулировать, изменяя концентрацию спирта и указанных хлоридов.

Было показано, что при повышении концентрации FeCl_3 и CuCl_2 выше, чем 20 мг/мл и 2,5 мг/мл, соответственно, оптические свойства гелей ухудшаются. Следует отметить, что в случае использования AlCl_3 конечный гель практически не содержит данного металла. Все образцы гелей были наиболее прозрачны для ближнего инфракрасного излучения ($\lambda=900$ нм, длина оптического пути равна 4 мм), так для геля, полученного с использованием AlCl_3 T (пропускание) =70,5%, для железо-содержащего геля $T=46\%$, для медь-содержащего геля $T=34\%$. При смещении в область более коротковолнового излучения пропускание монотонно снижается до нуля. При этом для геля, полученного с использованием AlCl_3 , для железо-содержащего, для медь-содержащего геля $T=0$ при $\lambda=350$ нм, $\lambda=520$ нм и $\lambda=630$ нм, соответственно.

Литература

1. Sochilina A.V. et al, Fabrication of moldable chitosan gels via thermally induced phase separation in aqueous alcohol solutions, International Journal of Biological Macromolecules, V 215, 501-511, 2022.

8.57. ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕРОПЕНЕМА, ЦЕФТРИАКСОНА И ЛЕВОФЛОКСАЦИНА С ЧЕЛОВЕЧЕСКИМ СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ

Якупова Л.Р., Коннова Т.Ю., Скурядина А.А., Кудряшова Е.В.

МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

Yakupova.Linara@mail.ru

Для терапии тяжелых форм инфекционных заболеваний используются антибактериальные молекулы различных классов как в индивидуальном виде, так и в форме комбинаций нескольких лекарственных препаратов. Наиболее востребованными в клинической практике лекарствами являются меропенем (МП), цефтриаксон (ЦТ) и левофлоксацин (ЛВ), относящиеся к группам карбопенемов, цефалоспоринов и фторхинолонов соответственно и обладающие широким спектром антибактериальной активности. При разработке систем доставки важно учитывать поведение активных частиц в кровотоке и характер их взаимодействия с человеческим сывороточным альбумином (ЧСА), который может оказывать существенное влияние на фармакологические параметры препарата, поскольку является превалирующим белком плазмы крови и участвует в транспорте низкомолекулярных веществ [1].

Данная работа посвящена расчету термодинамических параметров связывания ЧСА с МП, ЦТ и ЛВ с применением метода флуоресцентной спектроскопии. Взаимодействие препаратов с белком приводит к уменьшению интенсивности эмиссии ЧСА, которое позволяет количественно охарактеризовать процесс комплексообразования, так наиболее эффективное взаимодействие (25°C) наблюдается в системе ЛВ-ЧСА ($K_{\text{сф}} = 7,46 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$) по сравнению с ЦТ-ЧСА ($K_{\text{сф}} = 5,88 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$) и МП-ЧСА ($K_{\text{сф}} = 4,60 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$). На основании зависимости тушения эмиссии ЧСА от температуры ($25, 29, 33$ и 37°C) были рассчитаны ΔG , ΔH и ΔS реакции комплексообразования.

Таблица 1. Термодинамические параметры реакции комплексообразования МП, ЦТ и ЛВ с ЧСА.

| | ΔG , кДж/моль | ΔH , кДж/моль | ΔS , Дж/моль/К |
|--------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| МП-ЧСА | $-17,90 \pm 0,09$ | $-165,8 \pm 0,7$ | -495 ± 5 |
| ЦТ-ЧСА | $-36,75 \pm 0,17$ | $-193,5 \pm 0,8$ | -520 ± 2 |
| ЛВ-ЧСА | $-36,30 \pm 0,06$ | $-57,7 \pm 0,8$ | -71 ± 2 |

Из полученных данных следует, что наиболее стабильные комплексы формируются при взаимодействии белка с ЛВ. Понимание зависимости влияния ЧСА на антибактериальные молекулы позволит расширить область применения препаратов, путем создания формуляций с улучшенными свойствами.

Литература

1. Fanali G., Di Masi A., Trezza V. Human serum albumin: From bench to bedside// Molecular Aspects of Medicine. 2012 V. 33 P. 209-290.

СЕКЦИЯ 9

БИОМЕДИЦИНСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

9.1. ВВЕДЕНИЕ ПЛАЗМИДЫ HGF/VEGF УВЕЛИЧИВАЕТ ЭКСПРЕССИЮ КОМПЛЕКСОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ В ИШЕМИЗИРОВАННОЙ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОЖИРОВОЙ ДИЕТЫ

Агарёва М.Ю.^{1,2}, Мичурина С.С.^{1,3}, Болдырева М.А.¹, Меньшиков М.Ю.¹, Стафеев Ю.С.¹, Макаревич П.И.³, Парфёнова Е.В.^{1,3}

¹НМИЦ кардиологии имени академика Е.И. Чазова МЗ РФ, Москва

²МИРЭА - Российский технологический университет, Москва

³МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

amarrgo1999@gmail.com

Атеросклероз периферических артерий представляет собой серьезное заболевание, ведущее к инвалидизации населения. Для терапии данного заболевания широко используются плазмиды, несущие гены факторов роста, экспрессия которых способствует ангиогенезу. Диета и метаболический статус определяют скорость постишемической регенерации. Поэтому целью данной работы является изучение восстановления поврежденной ткани под действием плазмиды HGF/VEGF в различных метаболических условиях.

Самцов мышей C57BL/6J содержали на диетах с низким содержанием жиров (НЖД) и с высоким содержанием жиров (ВЖД) в течение 13 недель, на 10 неделе осуществляли моделирование ишемии задних конечностей и вводили плазмиду HGF/VEGF. Оценивали уровень глюкозы натощак, проводили инсулинотолерантный и глюкозотолерантный тесты. Кровоток оценивали методом лазерной доплерографии. Экспрессию митохондриальных белков оценивали с помощью иммуноблоттинга.

Введение плазмиды в группе ВЖД приводило к нарушению толерантности к глюкозе и улучшало кровоснабжение мышцы по данным доплерографии в условиях ВЖД. В ходе работы было обнаружено, что экспрессия комплекса I и комплекса II более чем в два раза выше в группе НЖД, по сравнению с ВЖД. При этом в группе ВЖД с HGF/VEGF наблюдается увеличение экспрессии комплекса I, комплекса IV и комплекс V по сравнению с ВЖД без плазмиды. Содержание митохондрий при введении плазмиды в группе НЖД снижается, и растет в группе с ВЖД, что можно определить по содержанию ТОММ20 в образце.

Таким образом, введение комбинированной плазмиды HGF/VEGF увеличивает васкуляризацию конечности, биогенез митохондрий и экспрессию комплексов дыхательной цепи в ишемизированной скелетной мышце. Это оказывает позитивное воздействие на трофику мышцы и может способствовать восстановлению ишемизированной скелетной мышцы в условиях высокожировой диеты.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда №22-75-10085.

9.2. ИЗУЧЕНИЕ СЕРОТИПОВОГО СОСТАВА *Streptococcus pneumoniae* У ДЕТЕЙ ДО ПЯТИ ЛЕТ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Александрова Е.В.^{1,2}, Никитина Е.В.²

¹Университет ИТМО, Санкт-Петербург

²Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России, Санкт-Петербург
aleksandrova.biotech@gmail.com

Streptococcus pneumoniae - возбудитель множества инфекционных заболеваний человека: отита среднего уха, внебольничной пневмонии, сепсиса, менингита, бактериемии, ринита [1]. Именно *S. pneumoniae* - главная причина острых пневмоний у детей младше двух лет. На данный момент описано более 100 серотипов пневмококка. Около 20 из этих серотипов считаются клинически значимыми. После начала применения конъюгированных вакцин мониторинг серотипового состава пневмококка стал особенно важен из-за последовавшего за этим явления замещения вакцинных серотипов на невакцинные.

Для изучения серотипового состава *S. pneumoniae* проводилось выделение ДНК из назофарингеальных мазков набором "АмплиПрайм ДНК-сорб-В". Выделенная ДНК проверялась на наличие ДНК пневмококка с помощью реал-тайм ПЦР (гены-мишень - *lytA*). Далее положительные на *S. pneumoniae* образцы проходили через ряд мультиплексных и моноплексных реакций для определения серотипа. Протокол реал-тайм типирования охватывает наиболее встречаемые и клинически значимые серотипы и серогруппы, среди них: 1, 2, 3, 4, 5, 6ABCD, 7AF, 9AV, 9LN, 11AD, 12FAB/44/46, 14, 15AF, 16F, 18ABCF, 19A, 19F, 22AF, 23A, 23F, 33AF/37.

В период с сентября 2021 года по май 2022 года изучено 446 образцов. Преобладающими серотипами в исследовании являются серотипы: 11AD, 19F, 15AF. Серотипы 1, 2, 5, 9AV, 7AF за исследование не встретились ни разу. Доля серотипов, не определяемых при помощи принятого нами протокола серотипирования, составляет около 36%. Сравнивая результаты данного исследования с более ранними данными, полученными в нашей лаборатории, можно заметить, что доля нетипируемых штаммов существенно выросла. Так, в 2016 г. доля нетипируемых составляла 0%, в 2017-2018 гг. - около 5% [2]. Рост количества нетипируемых штаммов - распространённая проблема, связанная с явлением замещения серотипов.

Литература

1. Brown, J.M et al. *Streptococcus pneumoniae*. Molecular Mechanisms of Host-pathogen Interactions. Academic press, 446 p. (2016).
2. Никитина, Е.В. и др. Серотиповый состав *Streptococcus pneumoniae*, циркулирующих у детей с респираторными инфекциями, оптимизация молекулярных методов. Антибиотики и химиотерапия. 66(11-12), 18-24 (2021).

9.3. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РЕДОКС-СОСТОЯНИЯ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИЙ И БЕЛОК-ЛИПИДНОГО СОСТАВА ЦИТОПЛАЗМЫ АСТРОЦИТОВ И НЕЙРОНОВ В ПЕРЕЖИВАЮЩИХ СРЕЗАХ ГИППОКАМПА МЫШИ

Алтунина А.В.^{1,3}, Морозова К.И.², Попов А.В.¹, Семейнов А.В.¹, Бражне Н.А.², Олейников В.А.¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

³Московский физико-технический институт (НИУ), Москва
aaltuninav@gmail.com

Астроциты - глиальные клетки мозга с множеством отростков, которые выполняют важную роль в функционировании центральной нервной системы. Так, астроциты обеспечивают так называемую метаболическую поддержку нейронов, участвуют в регуляции синаптической передачи и модулируют диаметр кровеносных сосудов, изменяя локальное кислородоснабжение клеток мозга. В последние годы накапливается все больше данных о том, что нарушения в работе астроцитов лежат в основе нейродегенераций. Целью данной работы было сравнительное исследование редокс-состояния митохондрией астроцитов и нейронов в переживающих срезах гиппокампа мозга мышей при нормоксии и гипоксии с использованием метода микроспектроскопии комбинационного рассеяния (КР). Все измерения были выполнены на конфокальном КР-микроспектрометре In Via Qontor (Renishaw, Великобритания) при лазерном возбуждении 532 нм при мощности лазера не более 1 мВт на область регистрации с диаметром не более 700 нм.

В ходе эксперимента показано, что КР спектры астроцитов в условиях нормоксии содержат пики, связанные с колебаниями связей в молекулах гемов восстановленных цитохромов С и В-типов в электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий, фенилаланиновыми остатками в белках, а также колебаниями связей в липидах и пептидных связей в белках. При кратковременной гипоксии (остановка перфузии срезов на 2 мин) происходит увеличение относительной интенсивности пиков, связанных с колебаниями гемов в восстановленных цитохромах С и В-типа, что соответствует замедлению электронного транспорта в ЭТЦ и накоплению восстановленных переносчиков электронов, в том числе, восстановленных цитохромов С и В-типа. Реоксигенация приводит к восстановлению относительной интенсивности указанных пиков, что связано с восстановлением переноса электронов в ЭТЦ на молекулу O₂ в комплексе IV. При регистрации КР-спектров от нейронов в гиппокампе подобного изменения не наблюдалось, что говорит о том, что такая кратковременная гипоксия не влияет на митохондрии нейронов, но влияет на митохондрии астроцитов. В дальнейшем будут исследованы условия гипоксии разной длительности и разной степени выраженности.

9.4. НАНОЧАСТИЦЫ БЕРЛИНСКОЙ ЛАЗУРИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Бальшеева К.Д.¹, Комкова М.А.², Карякин А.А.², Белоусов В.В.³, Абакумова Т.О.⁴

¹НИТУ "МИСиС", Москва

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

³Федеральный центр мозга и нейротехнологий, Москва

⁴РНИМУ имени Н.И. Пирогова МЗ РФ, Москва

kamiloniya@mail.ru

Онкологические заболевания являются одной из самых актуальных проблем современной медицины. Важна не разработка препаратов не только для лечения, но и для диагностики во время терапии. В связи с этим, актуально создавать мультимодальные частицы, проявляющие как диагностические, так и терапевтические свойства. Наночастицы берлинской лазури (БЛ) в этом направлении перспективны: они обладают свойствами антиоксидантов, могут применяться для гипертермии благодаря фототермическому эффекту, а также в качестве контраста для МРТ и фотоакустической визуализации. Целью настоящей работы является создание мультимодальных наночастиц берлинской лазури для лечения и диагностики рака и исследование их тераностических свойств. Объектом исследований стали каталитически активные наночастицы берлинской лазури, отличающиеся повышенным антиоксидантным воздействием, а также наноконплексы с этими частицами. Исследовались возможности их применения для фототерапии, для улучшенной доставки лекарственных препаратов, а также в качестве контрастного агента для МРТ. В результате экспериментов, во-первых, было показано, что наночастицы БЛ проявляют высокую каталитическую активность ($2.2 \times 10^3 \text{с}^{-1}$), эффективно снижая уровень АФК в клетках печени мышей, а также почти вдвое увеличивая концентрацию доставленного к опухоли лекарственного препарата в составе наноконплексов. Во-вторых, под излучением лазера 785 нм раствор наночастиц БЛ хотя нагревался, но так и не достиг температуры 40°C, необходимой для гипертермии. В-третьих, наночастицы БЛ проявили контрастирующие способности (T2-релаксивность - $29 \text{мМ}^{-1}\text{с}^{-1}$), достаточно хорошие, чтобы говорить о возможности использования изучаемых частиц как контрастных агентов для МРТ, но не подходят для T1-контрастирования.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 22-75-10151.

9.5. СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ ЦИКЛОАЛКЕНДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ И ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Блинова А.С.¹, Фирстова А.А.¹, Кованов Е.Р.¹, Ковалева М.И.²

¹Ярославский государственный технический университет, Ярославль

²Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль
sh-u-ra@mail.ru

В настоящее время поиск новых и модификация уже известных препаратов для противоопухолевой терапии является одним из актуальных направлений органического синтеза. В статьях [1-3] авторы приводят в качестве потенциальных скаффолдов N-замещенные имиды карбоновых кислот. Некоторые из описанных соединений позволяют приостанавливать процесс роста опухолевых тканей, что представляет возможность для значительного увеличения положительного результата в терапии.

Для синтеза ряда N-замещенных имидов карбоновых кислот использовали следующую синтетическую стратегию: ангидриды циклоалкендикарбоновых кислот (3а,4,7,7а-тетрагидро-2-бензофуран-1,3-дион, 5-метил-3а,4,7,7а-тетрагидро-2-бензофуран-1,3-дион, 4-оксатрицикло[5.2.1.0^{2,6}]дец-8-ен-3,5-дион) подвергали взаимодействию с L-аминокислотами кипячением в уксусной кислоте и далее химически модифицировали по карбоксильной группе или кратной связи. Преимуществом предложенного синтеза является применение доступных и недорогих реагентов, высокий выход продуктов.

Биологическая активность соединений определялась в лабораторных условиях токсикогенетическими методами: тест учета мутагенности и токсичности у лука *Allium cepa* (L.), тест учета доминантных летальных мутаций у *Drosophila melanogaster* (Meigen) и тест учета выживаемости и видимых мутаций у *Chlorella vulgaris* (Bejer.). В результате исследования было определено, что полученные соединения карбоновых кислот нетоксичны, а также обладают рострегулирующими свойствами.

Литература

1. Bailly C., Carrasco C., Joubert A. // Biochemistry. 2003. V. 42. P. 4136-4150
2. Richardson M. B., Gabriel K. N., Garcia J. A. // Bioconjugate Chem. 2020. V. 31. P. 1449?1462.
3. Firstova A.A., Kofanov E. R., Zakshevskaya V. M., Kovaleva M. I. // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 2019. V. 45. P. 204-213.

9.6. РАЗРАБОТКА ТАРГЕТНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ТЕТРАПИРРОЛОВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Бортневская Ю.С., Ширяев Н.А., Жданова К.А., Брагина Н.А.

МИРЭА - Российский технологический университет, Москва
Bortnevskaia2000@yandex.ru

Онкологические заболевания по-прежнему представляют большую угрозу для мирового здравоохранения. В настоящее время применение традиционных терапевтических методов лечения неоплазий связано с системными побочными эффектами, высокой частотой рецидивов, а также ограничивается накопленной дозой облучения. В связи с этим разрабатываются альтернативные методы лечения, характеризующиеся неинвазивностью, отсутствием токсического воздействия, а также позволяющие на ранних стадиях обнаруживать локализацию опухолевых тканей.

Фотодинамическая терапия (ФДТ) рака является хорошо зарекомендовавшей себя альтернативой хирургическому вмешательству, химиотерапии и лучевой терапии. Развитие данного подхода тесно связано с разработкой новых высокоэффективных фотодинамических агентов, а также с созданием средств их направленной доставки в опухоль. Ковалентная конъюгация фотосенсибилизаторов (ФС) с противоопухолевыми агентами на основе малых молекулярных структур со специфическим родством к раковым клеткам позволяет существенно повысить эффективность лечения онкологических заболеваний методом ФДТ.

Одной из потенциальных мишеней на поверхности опухолевых клеток является рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), регулирующий развитие эпителиальной ткани и гомеостаз. Более того EGFR все чаще признается биомаркером резистентности опухолей, поскольку его амплификация или вторичные мутации возникают под действием лекарственных препаратов. На данный момент подвергнуто клиническим испытаниям множество противораковых агентов - низкомолекулярных ингибиторов рецепторов эпидермального фактора роста, обладающих внутренней тирозинкиназной активностью. Подобные структуры на основе малых молекулярных мишеней способны проникать в цитоплазму и, следовательно, воздействовать на молекулу независимо от её субклеточной локализации.

В ходе данной работы были оптимизированы подходы получения конъюгатов синтетических *мезо*-арилпорфиринов с ингибитором EGFR - Эрлотинибом® для таргетной противоопухолевой терапии. Метод медь-катализируемого азид-алкинового циклоприсоединения был подобран в качестве основной стратегии синтеза целевого соединения. В роли азидной компоненты выступал предварительно синтезированный цинковый комплекс азидопорфирина, который обрабатывали коммерчески доступным препаратом Эрлотиниб®.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант №22-73-10176).

9.7. БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ ПОЛИСАХАРИДЫ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ, КАК ОСНОВА ДЕПО- ПРЕПАРАТОВ

Ванюшенкова А.А., Белов А.А.

Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева,
Москва

AVanishenkova@yandex.ru

На современном этапе развития медицины происходит смена тенденции ведения раневого процесса в сторону комплексности применяемых препаратов. Основой подобного выбора стало нежелание перегружать организм пациента лекарственными средствами, а также простота применения и подбора. Исходя из течения ранозаживления, идеальная композиция должна обеспечивать должное очищение раневой поверхности от детрита и сорбировать экссудаты. Также, в состав композиции должны быть включены антиоксидантные и антимикробные агенты. Помимо этого, препарат и продукты его деградации должны быть биодеструктурируемыми, не аллергенными, не токсичными, а также не перегружать ослабленный организм пациента избыточной лекарственной нагрузкой.

Основой комплексного перевязочного средства является матрица. В случае биологически активных лекарственных средств подобные вещества служат для иммобилизации различных терапевтических агентов. Однако, при правильном подборе, матрица способна к реализации значимых свойств, таких как обеспечение сорбции детритных масс, постепенной биодegradации, способствующей пролонгированной реализации действующего вещества, а также обеспечению антиоксидантных и антимикробных свойств. В нашей работе в качестве матрицы для иммобилизации терапевтических агентов были исследованы различные полисахариды медицинского назначения. Был сделан выбор в пользу диальдегидцеллюлозы и хитозанового полимера, основанный на их биодegradуемости, не токсичности и не аллергенности.

Было показано, что в условиях, моделирующих гнойную рану, происходит постепенный гидролиз носителя, способствующий поддержанию терапевтической дозировки активного вещества в течение необходимого периода. Диальдегидцеллюлоза обладает высокой сорбционной емкостью; в ходе деструкции образуются фрагменты альдегидной природы и карбоновые кислоты, не обладающие токсическим действием, но обладающие выраженной антиоксидантной активностью. Показано, что иммобилизация хитозана стабилизирует окисленный целлюлозный носитель, уменьшая скорость деструкции и увеличивая биоцидные свойства ранозаживляющей композиции. Было изучено влияние образующихся фрагментов на наиболее лабильные компоненты композиции - протеазы.

9.8. ИЗУЧЕНИЕ БИОСОВМЕСТИМОСТИ МАКРОПОРИСТЫХ БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ МАТРИКСОВ, СОДЕРЖАЩИХ МАГНИТНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ

Гладких Д.А.¹, Махонина А.А.¹, Дроздова М.Г.², Сажнев Н.А.³, Веселов М.М.⁴, Кильдеева Н.Р.³, Клячко Н.Л.⁴, Марквичева Е.А.²

¹Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

³Российский государственный университет А.Н. Косыгина (Технология. Дизайн. Искусство), Москва

⁴МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
daria_gladkikh2k2@mail.ru

Биодеградируемые матриксы, содержащие магнитные наночастицы, имеют большой потенциал в тканевой инженерии. Был показан эффект остеоиндукции магнитных наночастиц даже без внешней магнитной силы, а также усиление пролиферации клеток остеобластов [1,2].

Целью данной работа была изучение биосовместимости макропористых матриксов на основе смеси хитозана и фиброина, содержащих наночастицы магнетита (Fe_3O_4) в модели *in vitro* для дальнейшей разработки магниточувствительных матриксов для тканевой инженерии.

Макропористые матриксы, сшитые дженипином, содержащие магнитные наночастицы (5 и 10% масс.), получали как из хитозана, так и из смеси хитозана с фиброином (1:1) методом криоструктурирования. Цитотоксичность полученных матриксов изучали методом тестирования экстрактов, полученных после инкубации матриксов в среде культивирования ДМЕМ в течение 24 ч. В качестве модельных были использованы клетки линии мышинных фибробластов L929. Была показано, что полученные матриксы не цитотоксичны. Кроме того, изучали способность матриксов поддерживать адгезию, рост и пролиферацию клеток при их длительном культивировании *in vitro*. Для этого клетки L929 заседали на матриксы и культивировали 4-7 дней. С помощью конфокальной микроскопии было показано, что гидрогели поддерживали адгезию клеток и способствовали их расплыванию. Количественную оценку роста клеток на матриксах проводили с помощью МТТ-теста. Было обнаружено, что гидрогели, загруженные наночастицами магнетита, поддерживали рост и пролиферацию мышинных фибробластов. Таким образом, матриксы, содержащие магнитные наночастицы, могут быть предложены для разработки магнитоуправляемых матриксов для тканевой инженерии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 22-13-00261).

Литература

1. Wu Y. et al. A novel calcium phosphate ceramic-magnetic nanoparticle composite as a potential bone substitute //Biomedical Materials. - 2010. - Т. 5. - №. 1. - С. 015001.
2. Meng J. et al. Paramagnetic nanofibrous composite films enhance the osteogenic responses of pre-osteoblast cells //Nanoscale. - 2010. - Т. 2. - №. 12. - С. 2565-2569.

9.9. ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ПЕРВИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ ГЛИОБЛАСТОМЫ

Гондаренко Е.А., Мазур Д.В., Антипова Н.В., Кудрявцев Д.С., Шахпаронов М.И., Цетлин В.И.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
gondarenkoea@gmail.com

Мультиформная глиобластома (GBM) - самая распространенная и агрессивная опухоль головного мозга человека. Рецепторы ацетилхолина, в частности $\alpha 7$ никотиновый ацетилхолиновый рецептор (nAChR), экспрессируются при многих злокачественных опухолях, что может указывать на то, что повышенная активность этого рецептора связана с пролиферацией раковых клеток. Существует достаточно обширная панель селективных модуляторов, агонистов и антагонистов $\alpha 7$ nAChR.

Исследование проводили на первичных клетках глиобластомы человека и модельной линии глиомы человека U87MG, которые культивировали на стандартной среде для выращивания с сывороткой и на среде со специфическими факторами. В работе рассматривали первичные клеточные линии двух подтипов - пронейронального и мезенхимального. Клетки GBM стимулировали агонистами никотиновых ацетилхолиновых рецепторов: ацетилхолином, холином, никотином и эпibatидином. В качестве селективных конкурентных антагонистов использовали аземиопсин, блокирующий nAChR мышечного типа, и два α -конотоксина - PN1A [R9, L10], селективный к $\alpha 7$, и RG1A, ингибирующий $\alpha 9$. Изменение внутриклеточного $[Ca^{2+}]$ регистрировали при помощи флуоресцентного красителя Fluo-4 AM. На одной из линий пронейронального подтипа, выращенной на среде с сывороткой, детектированы $\alpha 7$ и $\alpha 9$ гомопентамерные рецепторы, и nAChR мышечного типа, в то время как на этой линии, выращенной на среде со специфическими факторами, функционально активные рецепторы обнаружены не были. На линиях мезенхимального подтипа, которые культивировали на среде со специфическими факторами, детектирован $\alpha 7$ nAChR.

Проведенное исследование показало применимость кальциевой визуализации в качестве системы скрининга функциональной активности nAChR на клетках глиобластомы.

Исследование выполнено за счет средств гранта РНФ (проект №18-74-10088).

9.10. ПОТЕНЦИАЛ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ НАТУРАЛЬНОГО ШЕЛКА ПАУКА ДЛЯ НУЖД ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Дауди Д.И.¹, Горевич Г.И.¹, Гринь Н.А.²

¹Национальный исследовательский университет ИТМО, SCAMT, Санкт-Петербург

²Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь
dauddin@scamt-itmo.ru

Одним из известных методов заживления поврежденных тканей и органов является процесс трансплантации ткани, но из-за дефицита подходящих доноров и высокой стоимостью технологии данный процесс лечения доступен не всем. Тканевая инженерия - это междисциплинарная область, соединяющая в себе принципы инженерных и биологических наук для создания материалов, которые будут поддерживать или улучшать функцию поврежденных тканей [1].

Однако распространенными проблемами данной технологии являются возникновение инфекций, занесенных во время операции, а также эстетическая непривлекательность, если ткань не зажила должным образом и образовалась рубцовая ткань [2]. Поэтому, существует задача в создании материала, который будет биосовместимым с человеческой кожей и полностью биоразлагаем в процессе ранозаживления.

Белки могут выступать в качестве перспективных компонентов для создания материалов, улучшающих заживление поврежденных тканей. Структурные белки, такие как коллаген, эластин, эластиноподобные пептиды, альбумин и фибрин, уже используются в качестве тканевых каркасов и агентов доставки лекарственных средств. Среди других природных биополимеров особое внимание привлекает ряд белков шелка, производимых шелкопрядами и пауками.

Цель научного проекта являлась в экстракции белка из натурального шелка паука *Ps. Cambridgei* и исследование его влияние на пролиферацию и цитотоксичность мезенхимальных стволовых клеток.

Полученные данные свидетельствуют о возможности использования белков паутины для нужд тканевой инженерии

Литература

1. Дауди Д.И. Создание флуоресцентных пен и пластырей на основе натурального шелка паука и углеродных наноструктур для медицинского применения // Сборник тезисов конференции Современные тенденции развития функциональных материалов -2021.
2. Goto S, Sakamoto T, Ganeko R, Hida K, Furukawa TA, Sakai Y. Subcuticular sutures for skin closure in non-obstetric surgery. Cochrane Database of Systematic Reviews 2020, Issue 4. Art. No.: CD012124.

9.11. ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ МЕТАБОЛИЗМА КЛЕТОК ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ БОЛЕЗНИ ЛЕША-НИХЕНА

Долгих А.И., Тагунов П.А.

ОГУ имени И.С. Тургенева, Орёл
dolgikhanig@mail.ru

Фермент гипоксантигуанинфосфорибозилтрансфераза (HPRT) участвует в пуриновом обмене, и его дефицит связан с избыточной продукцией мочевой кислоты, способной оказывать негативное влияние на работу митохондрий. На данный момент неизвестны эффективные подходы к терапии неврологических симптомов данной патологии, но детальное изучение биоэнергетики может способствовать решению этой проблемы.

Согласно полученным данным, клетки коры и среднего мозга мышей с мутацией HPRT1 характеризовались более низким митохондриальным мембранным потенциалом по сравнению с астроцитами и нейронами дикого типа (WT). Это является следствием патологии комплексов электрон-транспортной цепи (ЭТЦ). В случае комплекса I ЭТЦ нарушения могут быть выявлены путем измерения автофлуоресценции NADH. В результате исследований срезов мозга мы обнаружили высокий уровень митохондриального пула NADH и повышенную скорость продукции NADH в митохондриях клеток с мутацией HPRT1. Полученные данные свидетельствуют о патологии комплекса I.

Для определения характера нарушения были проведены исследования параметров дыхания изолированных митохондрий головного мозга, которые в случае мутантов показали значительно более низкую скорость АДФ-зависимого, в меньшей степени АДФ-независимого дыхания и пониженное значение дыхательного контроля, что говорит об ингибировании комплекса I.

Последнее может быть следствием или приводить к нарушению баланса образования и нейтрализации АФК. При измерении общих АФК было обнаружено значительное увеличение скорости окисления НЕТ в клетках среднего мозга животных с дефицитом HPRT. Кроме того, у них было также отмечено увеличение скорости выработки митохондриальных АФК в коре и в меньшей степени - среднего мозга. Однако анализ содержания антиоксиданта (восстановленного глутатиона) в клетках коры мышей-мутантов HPRT1 было более чем в 2 раза выше по сравнению с клетками WT, а в клетках среднего мозга было сопоставимо с данными клеток дикого типа.

Таким образом, избыточная продукция АФК не приводит к окислительному стрессу и не является причиной патологии в то время, как изменения в энергетическом метаболизме за счет ингибирования I комплекса могут быть причиной развития неврологических симптомов синдрома Леша-Нихена.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации № 075-15-2019-1877.

9.12. АНАЛИЗ РАЗНООБРАЗИЯ БАКТЕРИЙ НА ПОВЕРХНОСТЯХ РС МКС МЕТОДОМ МЕТАБАРКОДИНГА

Жукова Е.А.^{1,2}, Булаев А.Г.², Поддубко С.В.¹

¹ГНЦ РФ - Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

²ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

lena.95.10@mail.ru

Внутренние поверхности пилотируемых космических аппаратов подвергаются микробной контаминации. В процессе жизнедеятельности бактерии могут оказывать различные воздействия на поверхности, что может вызывать биокоррозионные повреждения. Пилотируемые космические аппараты богаты видовым разнообразием микроорганизмов, в том числе биодеструкторов. Целью настоящей работы является анализ микробного разнообразия поверхностей РС МКС методом метабаркодинга и поиск потенциальных агентов биокоррозии.

Материалы и методы. В ходе 65 экспедиции в рамках микробиологического мониторинга космонавтами было отобрано пять образцов с поверхностями РС МКС стерильными тампонами, которые в дальнейшем были культивированы на питательных средах. Для получения накопительных культур использовали среды для бактерий, которые имеют наибольшее значение для биокоррозии, а именно для групп железоредукторов, сероредукторов, сульфатредукторов и броидильных групп микроорганизмов. Идентификацию таксономического состава накопительных культур проводили путем амплификации и высокопроизводительного секвенирования генов 16S рРНК. После получения накопительных культур из них выделяли также чистые культуры путем посева на пептонно-дрожжевой агар. Полученные чистые культуры идентифицировали путем секвенирования генов 16S рРНК или MALDI-TOFF.

Результаты. При культивировании накопительных культур отмечали рост на средах для броидильных групп микроорганизмов. По результатам проведенного анализа можно заключить, что поверхности РС МКС характеризуются богатым видовым разнообразием и содержат от 7997 до 99094 операционных таксономических единиц. В накопительных культурах преобладали представители родов: *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Sphingomonas*, *Chitinophaga*, *Pseudomonas*, *Methylococcus*, *Sporolactobacillus*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus*, *Bacillus*. Идентификация чистых культур показала наличие: *Rhodococcus fascians*, *Sphingomonas albertensis*, *Mycolicibacterium arabiense*, *Acinetobacter ursingii*, *Pseudarthrobacter oxydans*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus megaterium*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warneri*. Таким образом, в ходе выполнения работы был выявлен целый ряд микроорганизмов потенциальных участников процессов биодеструкции. Микробные ассоциации, населяющие поверхности конструкционных материалов, и их наиболее агрессивные представители могут быть использованы для оценки биоразложения материалов, используемых в космических изделиях.

9.13. ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОГО ПОТЕНЦИАЛА ТЕТРАНИТРОЗИЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА С ПЕНИЦИЛЛАМИНОВЫМИ ЛИГАНДАМИ НА МОДЕЛИ КАРДИОТОКСИЧНОСТИ У МЫШЕЙ

Забельникова А.М.¹, Файнгольд И.И.², Санина Н.А.², Смолина А.В.²

¹Ивановский государственный университет, Иваново

²ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН,

Черноголовка

zabel.am@yandex.ru

Известно, что дисбаланс между образованием активных форм кислорода и азота, вызываемый ими окислительный стресс являются основными причинами старения и развития ряда социально значимых заболеваний (СЗЗ): нейродегенеративных, например, болезни Альцгеймера; сердечно-сосудистых заболеваний, таких как ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, сердечная недостаточность и др. Высокий уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) клеточных мембран, нарушение их функций, работы мембраносвязанных ферментов и рецепторов являются критическими процессами, обуславливающими развитие патологических процессов. Образованные в результате ПОЛ высокореактивные метаболиты вызывают цитотоксические реакции. Поэтому важнейшим критерием для отбора кандидатов при разработке перспективных лекарственных средств для лечения СЗЗ является антиоксидантная активность. В этом свете перспективными являются доноры монооксида азота (NO), способные работать без дополнительной активации в организме: сера-нитрозильные комплексы железа. В настоящей работе исследован антиоксидантный потенциал катионного тетранитрозильного комплекса железа с пеницилламиновыми лигандами (комплекса I) в гомогенатах печени мышей с моделью кардиотоксичности, вызванной азитромицином.

Влияние комплекса I на интенсивность процесса ПОЛ определялось по содержанию его конечного ТБК (тиобарбитуровая кислота)-активного продукта, малонового диальдегида, в гомогенате печени мышей экспериментальных групп. Впервые установлено, что комплекс I в дозе 18 мг/кг эффективно снижает интенсивность процесса ПОЛ в гомогенате печени мышей с моделью кардиотоксичности (примерно на 49% по сравнению с контрольной группой без терапии). Нитроглицерин, известный вазодилаторный препарат, оказывает сходное действие в дозе 18 мг/кг, но при этом в дозе 36 мг/кг значительно повышает интенсивность процесса ПОЛ. Приведенные результаты и литературные данные о антигипертензивных и противоишемических свойствах комплекса I позволяют рекомендовать его в качестве перспективного кандидата для терапии СЗЗ и рассматривать его антиоксидантную активность как один из важнейших механизмов его кардиопротекторного эффекта.

Изучение биологической активности комплекса I поддержано грантом РФФИ (проект № 22-24-00764). Синтез исследуемого комплекса поддержан Государственным заданием [№ АААА-А19-119071890015-6].

9.14. ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НАНОЧАСТИЦ LaB6 В УСЛОВИЯХ ОБЛУЧЕНИЯ ЛАЗЕРОМ И БЕЗ *IN VITRO*

Ильсов А.Р.¹, Баранова А.С.², Гостева Е.А.¹

¹НИТУ МИСиС, Москва

²НИЯУ МИФИ, Москва

ilyasov.1997@inbox.ru

Фототермия остается перспективным направлением исследований терапии раковых опухолей. С точки зрения материаловедения интересной задачей является поиск наилучшего способа разогреть опухоль до диапазона температур в 45 - 60°C, достаточной для гибели клеток. Одним из способов нагрева является использование лазеров в ИК-диапазоне с наночастицами, активно поглощающими излучение.

В работе были исследованы цитотоксические свойства наночастиц LaB6. Этот материал обладает отличной поглощательной способностью света в диапазоне длин волн от 700 до 1000 нм, что как раз находится в середине окна прозрачности биологических тканей. Для экспериментов по цитотоксичности использовались наночастицы LaB6, полученные методом лазерной абляции. Наночастицы имели гидродинамический размер около 1200 нм, зета потенциал около 24 мВ в фосфатном буферном растворе. Выживаемость клеток культуры СНО исследовали методом МТТ-тестирования в концентрациях до 600 мкг/мл, измеренных относительно лантана.

По результатам исследований значение IC50 (концентрация наночастиц, при которой наблюдалась гибель 50% клеток) составляло примерно 450 мкг/мл. В условиях облучения лазером длины волны 808 нм в течение 60 с нагрев составлял около 70°C. Показатель IC50 после нагрева был уже 150 мкг/мл.

Таким образом, нагрев позволял в 3 раза увеличить цитотоксичность наночастиц, что может быть использовано в фототерапии раковых опухолей.

9.15. СОДЕРЖАНИЕ КИНУРЕНИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ В НОРМЕ И ПРИ ОЖИРЕНИИ

Кайдошко С.С., Ягодкина Е.М.

РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва

saveliykaydohko@gmail.com

Введение. Ранее кинуренин и его метаболиты были предложены в качестве биомаркеров для идентификации инициации и прогрессирования атеросклероза и сахарного диабета 2 типа (СД2Т). Целью нашего исследования было изучить содержание кинуренина у детей и взрослых в норме и при ожирении.

Материалы и методы. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием изучили концентрацию сывороточного кинуренина у взрослых (265 мужчин и женщин старше 18 лет, из них 129 с ИМТ < 24,9 кг/м² и 136 человек с ИМТ > 30 кг/м²) и детей (10-18 лет; 99 детей с индексом массы тела (ИМТ) - 16,7-22,9 кг/м² и 100 детей с ИМТ - 25,2-34 кг/м²) с ожирением разной степени.

Результаты. При сравнении группы взрослых, условно здоровых-добровольцев, с такой же возрастной группой больных с ожирением нами было установлено, что уровень сывороточного кинуренина статистически значимо (при $p < 0,01$) повышен при ожирении. Установленные нами отличия, о повышении кинуренина в сыворотке крови при ожирении, согласуются с имеющимися результатами других исследовательских групп. Нами показано, что уровень кинуренина в сыворотке крови у взрослых здоровых-добровольцев был 2120 ± 863 нмоль/л, тогда как у взрослых больных, имеющих ожирение данный показатель составил - $2403 \pm 860,1$ нмоль/л. У детей сывороточный уровень кинуренина в норме был статистически значимо гораздо выше, чем у взрослых здоровых-добровольцев и составил $2559 \pm 860,1$ нмоль/л (при $p < 0,001$). Тогда как, в группе детей, имеющих ожирение, нами не было установлено статистически значимой разницы, и данный показатель составил 2670 ± 828 нмоль/л при сравнении с группой здоровых детей или взрослых, которые имели ожирение.

Выводы. Уровень сывороточного кинуренина статистически значимо повышен при ожирении только у взрослых. У детей, не имеющих ожирения, концентрация сывороточного кинуренина выше, чем у взрослых с нормальным ИМТ.

9.16. АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ ТРАНСКРИПТОМА МИОКАРДА РОССИЙСКИХ ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЕЛОЙ ФОРМОЙ ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

*Класс А.Д.¹, Власов И.Н.¹, Шадрина М.И.¹, Сломинский П.А.¹, Лысенко А.В.²,
Салагаев Г.И.², Филатова Е.В.¹*

¹НИЦ "Курчатовский институт", Москва

²РНЦ хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва
annaklass@img.msk.ru

Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) является наиболее распространенной (1:500) формой генетически обусловленных патологий миокарда и характеризуется выраженной гипертрофией, преимущественно левого желудочка (ЛЖ). Однако, несмотря на многолетние исследования, молекулярно-генетические основы этиопатогенеза ГКМП до конца не выяснены. Более того, высокая генетическая гетерогенность, характерная для ГКМП, затрудняет выявление точных молекулярных механизмов развития патологии. Поэтому, в настоящее время является актуальным выявление и изучение специфичных молекулярных нарушений, вызываемых конкретными мутациями, что в свою очередь может стать предпосылкой для создания таргетной персонифицированной терапии. В связи с этим, целью данного исследования было проведение полнотранскриптомного анализа образцов гипертрофированного миокарда, полученного от пациентов с ГКМП, с учетом специфики индивидуального генетического фона.

В данной работе было проведено полнотранскриптомное секвенирование биоптатов миокарда, полученных от 24 пациентов с тяжелой формой ГКМП в рамках хирургического лечения (септальная миозектомия). Секвенирование полного транскриптома осуществляли на базе платформы HiSeq 2500 (Illumina, США). Все пациенты были разделены на группы сравнения по следующим параметрам: наличие семейной истории ГКМП, наличие хронической сердечной недостаточности II или III класса, терапия определенными лекарственными препаратами и т.п. Кроме того, дополнительно в качестве группы сравнения использовали данные секвенирования аутопсийного материала, опубликованные в GEO. С помощью биоинформатического анализ массива данных были выявлены дифференциально экспрессирующиеся гены (ДЭГ), что позволило провести сопоставление первичных генетических дефектов с молекулярным фенотипом миокарда конкретных пациентов с целью идентификации специфических молекулярных механизмов, связанных с развитием ГКМП.

Работа поддержана грантом РНФ № 22-15-00243.

9.17. ИНГИБИРОВАНИЕ РЕПРОДУКЦИИ РНК-ВИРУСОВ ПРЕПАРАТАМИ БЕНГАЛЬСКОГО РОЗОВОГО В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК

Колпакова Е.С.¹, Карпова Е.В.¹, Шустова Е.Ю.¹, Аралов А.В.²,
Камзеева П.Н.², Козловская Л.И.^{1,3}

¹ФНЦ исследований и разработки иммунобиологических препаратов им.
М.П. Чумакова (Институт полиомиелита), Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, Москва

³Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ, Москва
katerina.kolp@gmail.com

Бенгальский розовый (БР), анионный ксантеновый краситель, ранее продемонстрировавший широкий спектр индуцированной цитотоксичности в отношении опухолевых и микробных клеток. Препарат БР, известный как PV-10, в настоящее время проходит клинические испытания как противоопухолевый препарат широкого спектра действия (меланома, рак молочной железы). В опухолевых клетках препарат избирательно проходит через клеточную мембрану и накапливается в лизосомах, что приводит к аутолизу. При этом, применение БР против вирусов мало изучено, и производные БР не рассматривались в качестве противовирусных средств. В этом исследовании мы оценили противовирусные свойства производных БР, замещенных по карбоксильной группе алкильными заместителями различной длины (от C4 до C12).

Противовирусную активность оценивали *in vitro* в отношении следующих вирусов: вируса Чикунгунья, SARS-CoV-2, Coxsackievirus A16, Echovirus 13 и Poliovirus type 1 по сравнению с известным ингибитором широкого спектра действия N4-гидроксицитидин (ННС). Для активных соединений были построены кривые зависимости эффекта от дозы препарата с расчётом 50% ингибиторной концентрации (IC_{50}), а также были проведены исследования с целью выявления механизма действия препарата.

Производные БР эффективно подавляли репродукцию оболочечных вирусов Чикунгунья и SARS-CoV-2 *in vitro* со значениями IC_{50} менее 10 мкМ, при этом они не подавляли репродукцию безоболочечных энтеровирусов в максимальной исследованной концентрации 100 мкМ, что косвенно позволяет предположить механизм действия через вирусную оболочку. Полученные данные позволили провести корреляцию между структурой и активностью соединений, а также выявить наиболее активное производное, которым является препарат с длиной алкильной цепи C4 (n-бутил).

Таким образом, гидрофобные производные БР являются перспективной и оригинальной платформой для разработки лекарственных препаратов против оболочечных вирусов.

9.18. ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ПРЕИМУЩЕСТВО ДВУХСТАДИЙНОЙ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ НАНОЧАСТИЦ, ЗАГРУЖЕННЫХ ДОКСОРУБИЦИНОМ, ПО СРАВНЕНИЮ С ОДНОСТАДИЙНОЙ ДОСТАВКОЙ

Комедчикова Е.Н.^{1,2}, Шипунова В.О.^{1,2,3}, Коваленко В.Л.¹, Терёшина Е.Д.¹, Колесникова О.А.¹, Котельникова П.А.², Согомонян А.С.², Никитин М.П.^{1,3}, Деев С.М.²

¹Московский физико-технический институт (НИУ), Москва

²Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

³Научно-технологический университет "Сириус", Сочи
elena.komedchikova@gmail.com

Трансляция в клиническую практику адресных наноформуляций лекарственных препаратов для терапии онкозаболеваний на сегодняшний день ограничена целым рядом причин не только экономического характера. Так, при всём очевидном потенциале такого рода наноструктур для диагностики и терапии, их эффективность и специфичность недостаточна для эффективного применения *in vivo*. В связи с этим разработка инновационных методов направленной доставки является критически важной сферой наномедицины. Одним из активно развивающихся направлений адресной доставки является двухстадийная доставка терапевтических соединений к раковым клеткам-мишеням, при которой на первом этапе происходит доставка нетоксичного распознающего компонента к поверхности клетки, с последующим введением в меньшем количестве комплементарного компонента, несущего терапевтический препарат или имеющего другую необходимую модальность, например, диагностическую.

В данной работе:

1. Были получены и охарактеризованы полимерные наночастицы, загруженные терапевтическим соединением - доксорубицином, которые впоследствии были использованы для одностадийной и двухстадийной доставки доксорубицина в раковые клетки, сверхэкспрессирующие рецептор HER2.

2. Было продемонстрировано уменьшение IC50 доксорубицина более чем в 100 раз при переходе от одностадийной к двухстадийной системе доставки *in vitro* на клеточной линии со сверхэкспрессией онкомаркера HER2.

3. *In vivo* было продемонстрировано, что индекс ингибирования роста HER2+ опухоли при двухстадийной доставке увеличивался в 1.4 раза.

Исследование выполнено при поддержке Научно-технологического университета "Сириус" (проект NMB-RND-2120).

9.19. РОЛЬ МОНОЦИТОВ В ИНИЦИИИ ОТТОРЖЕНИЯ ДЕНТАЛЬНЫХ ИМПЛАНТАТОВ

Костенко В.В.¹, Лабис В.В.², Демин Д.Э.¹

¹Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

²Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова, Москва
89168752290@mail.ru

Остеоинтеграция - сложный иммуноопосредованный процесс приживления дентальных имплантатов в костной ткани, в котором участвует множество различных типов клеток. Можно выделить группу пациентов (в 10 процентах случаев), у которых в ранние и поздние сроки приживления возникают воспалительные процессы, приводящие к дезинтеграции дентальных имплантатов [1].

В предыдущих работах Лабис et al. была изучена свободная эмиссия и эмиссия при имитации нагрузки частиц дентальных имплантатов с поверхности окисного слоя. Частицы были охарактеризованы. Была показана способность к миграции наночастиц по кровеносным сосудам и с помощью рентгеноסקопии высокого разрешения выявлено накопление микрочастиц в тканях [2].

Для того, чтобы изучить, какие механизмы опосредуют отторжение имплантатов, мы исследовали взаимодействие моноцитов с наноразмерными частицами в присутствии сыворотки пациентов с различными состояниями после проведения операции дентальной имплантации. На моноцитарной линии клеток ТНР-1 с помощью микроскопии мы показали поглощение наночастиц моноцитами.

В данной работе было показано, что наличие наночастиц приводит к изменению уровня экспрессии мРНК интерлейкинов и генов, участвующих в активации моноцитов, что может приводить к возникновению дальнейшего каскада иммунного ответа.

Предварительные результаты показывают, что изменение экспрессии зависит от сыворотки пациента, в которой происходило взаимодействие наночастиц с клетками линии ТНР-1.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что механизм отторжения имплантатов может быть связан с моноцитами, которые могут запустить развитие дальнейших воспалительных каскадов, в итоге приводящих к дезинтеграции имплантатов.

Литература

1. Лабис В.В. Новый взгляд на биоинертность дентальных имплантатов. Медицинская иммунология. 2011; 13 (4-5): 484-5.
2. Labis, V., et al. "Assessment of dental implant surface stability at the nanoscale level" Dental Materials, 2022, 38(6), стр. 924-934.

9.20. ИССЛЕДОВАНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ТАРГЕТНОЙ И ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА

Крылова Л.В.¹, Карпова М.А.¹, Шульга А.А.², Коновалова Е.В.², Гурьев Е.Л.¹, Деев С.М.^{2,3}, Балалаева И.В.¹

¹ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

³Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва
lu.krylova@mail.ru

С целью повышения эффективности противоопухолевой терапии в настоящее время ведется разработка комбинированных схем лечения. Принцип комбинированной терапии основан на сочетанном применении нескольких терапевтических агентов, различных по механизму действия. В результате комбинации могут наблюдаться аддитивный или синергический эффект при сниженной терапевтической дозе каждого индивидуального компонента. Целью данной работы явилось исследование комбинированного действия таргетного токсина DARPIn-LoPE и фотодитазина (ФД) в отношении аденокарциномы молочной железы человека SK-BR-3, характеризующейся высоким уровнем экспрессии HER2-рецептора.

Реализация комбинированного действия проводилась путем последовательной обработки клеток DARPIn-LoPE и ФД с облучением в дозе 20 Дж/см². Оценку цитотоксичности агентов и их сочетания проводили с помощью МТТ-теста. Определение типа лекарственного взаимодействия проводили путем расчета комбинаторного индекса CI.

При таргетном и фотодинамическом воздействии по отдельности значения концентрации полумаксимального ингибирования IC₅₀ составили 2,8 пМ и 0,64 мкМ, соответственно. Последовательное применение агентов в дозах, приближенных к значениям IC₅₀ (2 пМ DARPIn-LoPE и 0,5 мкМ ФД), показало значительное увеличение эффективности воздействия по сравнению с монотерапевтическим применением. Анализ кривых доза-эффект показал, что сочетание двух видов воздействия привело к существенному снижению жизнеспособности клеток при значительном уменьшении концентраций токсина и ФС. Рассчитанное значение CI составило 0,07, что свидетельствует о значительном синергическом эффекте.

Полученные данные свидетельствуют об эффективности комбинации DARPIn-LoPE и ФД в отношении HER2-положительных клеток рака молочной железы и позволяют рассматривать их в качестве перспективной комбинированной схемы терапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект №19-74-20168).

9.21. РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ЭКСПРЕССИИ И ОЧИСТКИ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА L1 ПАПИЛЛОМАВИРУСА HPV16

Куклянова В.В., Долгова А.С., Шабалина А.В.

НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург
veronika130225@gmail.com

Папилломавирусная инфекция HPV16 вызывает рак шейки матки, аногенитальной части и ротовой полости. Рак шейки матки является наиболее распространенным среди заболеваний женской репродуктивной системы. При естественном контакте человека с инфекцией только в 15% случаях происходит выработка специфических антител IgG, так как HPV16 имеет различные механизмы уклонения от иммунной системы. Данный факт является обоснованием к вакцинации. Современные вакцины, доступные в России (Церварикс и Гардасил), содержат рекомбинантный белок L1 разных штаммов папилломавируса, в том числе и HPV16.

В нашей работе рекомбинантный белок L1 был получен с использованием системы экспрессии на основе *Escherichia coli*-BL21(DE3). Последовательность гена L1 была собрана *de novo* методом "ПЦР в два шага". Были созданы экспрессионные конструкции на основе вектора pGD, для экспрессии L1 в состоянии, слитом с дополнительными тегами. Конформационные особенности тега способствуют улучшению растворимости целевого белка, его правильному сворачиванию и упрощению очистки. Были подобраны различные условия экспрессии в зависимости от тега. Белок MBP-L1, содержащий мальтозосвязывающий белок *E. coli* (MBP), был получен в растворимой фракции. Белок SUMO-L1, содержащий белок-модификатор, подобный убиквитину (SUMO), был получен в виде телец включений. Дополнительно, экспрессионные конструкции содержат 6His последовательность для очистки. Очистку MBP-L1 проводили никель-аффинной хроматографией в нативных условиях, а SUMO-L1 в денатурирующих условиях. Полученные белки проверяли методами Вестерн-блота и иммуноферментного анализа (ИФА) в реакции с коммерческими антителами Abscam, специфичными к белку L1.

Таким образом, нами были получены очищенные белковые субстанции MBP-L1 и SUMO-L1 которые в дальнейшем можно использовать в качестве антигена для создания тест-системы на основе ИФА. Планируется оценка антител класса IgG из сыворотки крови вакцинированных и переболевших пациентов. Тест-система будет использоваться для эпидемиологического надзора за папилломавирусной инфекцией и оценки прививочной компании, после внесения вакцины в национальный календарь прививок.

9.22. ВЛИЯНИЕ КОРТИКОСТЕРОНА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ, СВЯЗАННЫХ С РАЗВИТИЕМ ДЕПРЕССИИ, В КУЛЬТУРЕ АСТРОГЛИОМЫ КРЫСЫ ЛИНИИ С6

Курко О.Д.¹, Топникова М.Н.², Долотов О.В.¹, Гривенников И.А.¹

¹НИЦ "Курчатовский институт", Москва

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

flaute.kurko@yandex.ru

Депрессия - одно из наиболее широко распространенных психических расстройств, однако механизмы ее возникновения и развития до сих пор остаются в значительной степени неясными [1]. Ряд исследований показывает, что одним из важных факторов развития депрессивных расстройств является хронический стресс, приводящий к длительному повышению уровня кортизола (кортикостерона у грызунов) в мозге [2]. Астроциты обеспечивают функционирование нейронов, в частности, являясь источником нейротрофических факторов и регулятором уровней нейротрансмиттеров, что предполагает вовлеченность астроцитов в развитие депрессии [1,4]. Однако механизмы нарушений функций астроцитов в условиях хронического стресса и пути их нормализации недостаточно исследованы. Целью нашей работы было моделирование *in vitro* нарушений функций астроцитов, вызванных острым и хроническим стрессом, с использованием клеточных культур астроглиомы крысы линии С6. Воздействие острого стресса на клетки моделировали однократным введением кортикостерона в культуральную среду, а хронического - введением кортикостерона в течение 7 дней. Изучены эффекты острого и хронического введения кортикостерона на уровни транскрипции генов нейротрофических факторов и регуляторов уровней нейротрансмиттеров в клетках С6. Как острое, так и хроническое введение кортикостерона вызывало повышение уровней транскрипции гена BDNF. Острое введение кортикостерона повышало уровни экспрессии NGF, а хроническое - снижало уровни экспрессии VEGF и GDNF. Хроническое введение кортикостерона вызывало повышение уровней экспрессии глутаминсинтазы и транспортера серотонина и снижение экспрессии астроцитарного маркера GFAP. Полученные данные свидетельствуют о дифференциальном действии повышенных уровней кортикостерона на экспрессию в астроцитах факторов, связанных с развитием депрессии.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ № 22-25-00807.

Литература

1. Dolotov, O.V. et al. Stress-Induced Depression and Alzheimer's Disease: Focus on Astrocytes. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23, 4999.
2. De Kloet, E.R. Hormones and the stressed brain. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2004, 1018, 1-15.
3. Markov D.D. et al. Systemic N-terminal fragments of adrenocorticotropin reduce inflammation- and stress-induced anhedonia in rats. *Psychoneuroendocrinology.* 2017 Aug;82:173-186.
4. Murphy-Royal, C et al. Stress-induced structural and functional modifications of astrocytes- Further implicating glia in the central response to stress. *Glia* 2019, 67, 1806-1820.

9.23. АДРЕСНАЯ ДОСТАВКИ К РАКОВЫМ КЛЕТКАМ ГИБРИДНЫХ КОНСТРУКЦИЙ НА ОСНОВЕ ФЕРРИТИНА, БАРНАЗЫ И DARPin9_29

Лосева Т.В., Фролова А.Ю., Мамаева А.А., Какуев Д.Л., Мартынов В.И., Пахомов А.А.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
tamara.v.loseva@gmail.com

Ферритин (FT) - белок, выполняющий в организме человека функции запасаения и переноса железа. Он формирует сферообразную структуру, состоящую из 24 субъединиц. В настоящей работе олигомерная структура FT была использована для получения мультилигандных адресных белковых конструкций, состоящих из FT человека и DARPin9_29 на N-конце для нацеливания на Her2/neu-положительные раковые клетки. Между DARPin9_29 и FT в составе гибридного белка мы вставили рибонуклеазу барназу (Bn), обладающую токсическим действием. Ген целевой конструкции DARPin9_29-Bn-FT был заклонирован в экспрессионный вектор pET-24 и экспрессирован в штамме *E. coli* Rosetta. Для ингибирования токсического действия барназы в тот же вектор был встроен ген барстара - белкового ингибитора барназы. После наработки целевой белок выделяли с помощью Ni-NTA агарозной хроматографии и очищали от барстара в денатурирующих условиях (6М гуанидина гидрохлорида). Затем целевой белок ренатурировали ступенчатым диализом и метили флуоресцентным красителем AlexaFluor488. Тестирование препаратов проводили на культуре раковых клеток SK-BR-3, гиперэкспрессирующих рецептор HER2/neu, а также на контрольных культурах с нормальной экспрессией рецептора HER2/neu.

9.24. ЭКСПРЕССИОННЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ В ТКАНЯХ МОЗГА МЫШЕЙ С МФТП-ИНДУЦИРОВАННОЙ МОДЕЛЬЮ РАННЕЙ СИМПТОМНОЙ СТАДИИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Лукашевич М.В.¹, Семенова Е.И.¹, Руденок М.М.¹, Шадрина М.И.¹, Узрюмов М.В.², Колачева А.А.², Сломинский П.А.¹, Алиева А.Х.¹

¹НИЦ "Курчатовский институт", Москва

²Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва
farouki@mail.ru

Болезнь Паркинсона (БП) - неуклонно прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, в основе которого лежит постепенная гибель нигростриатных дофаминергических нейронов. Распространённость БП напрямую связана с возрастом: среди лиц старше 60 лет - 1% в популяции, а среди лиц старше 80 лет составляет не менее 4-5% населения. В последнее время отмечается рост числа больных БП, а также снижение возраста начала заболевания. На сегодняшний день очевидно, что БП является многофакторным заболеванием, в патогенез которого вовлечены различные механизмы. Однако до сих пор не выявлены все клеточные процессы, нарушение которых связано с развитием данной патологии, особенно участвующие в инициации нейродегенерации при БП.

Нарушение циклов сна и бодрствования у пациентов с БП позволяют предположить, что гистаминергическая система участвует в прогрессировании заболевания. При этом на развитие БП может оказывать влияние как сам уровень гистамина, так и работа ферментов и рецепторов гистаминергической системы.

До сих пор не существует методов изучения эндогенных процессов, происходящих в головном мозге пациентов с БП. Допустимым подходом является изучение моделей БП, в первую очередь основанных на введении модельным животным различных нейротоксинов. К группе таких нейротоксинов относят 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП), который многие годы считают "золотым стандартом" для моделирования БП.

В данной работе был проведён анализ экспрессии генов *Hrh1*, *Hrh3*, *Hnmt*, *Per1*, *Per2*, *Chrm3* в стриатуме и чёрной субстанции (ЧС) мозга мышей с МФТП-индуцированной ранней стадией БП. Анализ проводился при помощи ПЦР в реальном времени с использованием TaqMan-зондов.

В результате экспрессионного анализа нами было выявлено статистически значимое снижение экспрессии гена *Per1* в стриатуме, что может быть связано с нарушением циркадных механизмов. Нарушение циркадных механизмов, в свою очередь, может быть связано с процессами нейродегенерации и её усилением.

9.25. ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУР ГЛИОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА В РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Мазур Д.В.^{1,2}, Гондаренко Е.А.^{1,2}, Антипова Н.В.², Павлюков М.С.²,
Шахпаронов М.И.², Кудрявцев Д.С.²

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

²Институт биоорганической химии. им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

ОвчинниковаРАН, Москва

dianamazur@yahoo.com

Мультиформная глиобластома является наиболее распространенной и злокачественной опухолью мозга, средняя выживаемость пациентов составляет 12-15 месяцев. Главная опасность глиобластомы заключается в её гетерогенности и активном взаимодействии с микроокружением, в том числе с никотиновыми ацетилхолиновыми рецепторами (нАХР). Активация или блокировка подтипов нАХР может увеличить или уменьшить пролиферацию и инвазию опухоли. Важно, чтобы модельные линии, на которых она изучается были приближены к реальным опухолям пациентов. На данный момент первичные культуры являются самыми репрезентативными моделями, так как они сохраняют гетерогенность исходной опухоли, поэтому при культивировании первичных культур важно подобрать подходящие условия *in vitro* для сохранения их гетерогенности.

В качестве модельных объектов в нашей работы мы использовали первичные клеточные культуры, полученные от пациентов: линии 11, 19, 267 и 22. В качестве контроля была использована иммортализованная клеточная линия U87MG. Культуры клеток первичных линий GBM культивировали при температуре 37°C, 5% содержании CO₂ во внешней среде и 100% влажности на разных вариантах сред: полной ростовой среде DMEM/F12 (2% B27; глутамин (2 мМ); EGF (20 нг/мл); bFGF (20 нг/мл); пенициллин (100 ед/мл); стрептомицин (100 мкг/мл)) в виде нейросфер и полной ростовой среде DMEM/F12 (10% FBS; глутамин (2 мМ); пенициллин (100 ед/мл); стрептомицин (100 мкг/мл)) в виде прикрепленного слоя. Влияние активности подтипов нАХР изучалось с помощью различных лигандов (агонистов и антагонистов нАХР).

В результате нашей работы были получены данные о влиянии активности подтипов $\alpha 1$, $\alpha 7$ и $\alpha 9$ нАХР на пролиферацию опухоли. Изменение пролиферации измеряли с помощью метода Alamar Blue (аламаровый синий). В ходе опытов были получены данные, которые показывают, что активация подтипов $\alpha 1$, $\alpha 7$ и $\alpha 9$ нАХР не меняет интенсивность пролиферации клеток глиобластомы в условиях *in vitro*, в то время как блокировка рецепторов вызывает повышение пролиферации клеток. Особенно интересно то, что при блокировке подтипов $\alpha 1$, $\alpha 7$ и $\alpha 9$ нАХР максимальное повышение пролиферации клеток было заметно при культивировании их в стандартной среде, содержащей сыворотку.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 21-74-10092.

9.26. БЕЗАНТИТЕЛЬНЫЕ Flt3-CAR Т-КЛЕТКИ ДЛЯ ТАРГЕТИРОВАНИЯ ТИРОЗИНКИНАЗНОГО РЕЦЕПТОРА Flt3 ПРИ ОСТРОМ МИЕЛОИДНОМ ЛЕЙКОЗЕ

Майорова В.Е., Моллаев М.Д., Вихрева П.Н., Кибардин А.В., Масчан М.А., Ларин С.С.

НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева, Москва
maiorova.varvara@yandex.ru

В большинстве случаев острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) представленность рецептора Flt3 на поверхности бластных клеток значительно повышена. Это делает рецептор Flt3 перспективной молекулярной мишенью для препаратов, основанных на применении подхода химерных антигенных рецепторов (CAR).

Рецептор CAR - это трансмембранный белок, внеклеточная часть которого традиционно формируется из одноцепочечного фрагмента варибельной части антитела (scFv), специфичного к опухолеассоциированному антигену. Внутриклеточную часть химерного рецептора составляют ко-стимулирующие домены и активирующий фрагмент Т-клеточного рецептора CD3 ζ . Так, в результате узнавания молекулярной мишени на поверхности опухолевой клетки фрагментом scFv антитела происходит активация CAR Т-клетки, зависящая от присутствия антигенпрезентирующих клеток, в отличие от обычных Т-клеток.

Дизайн последовательности CAR рецептора включает изменение последовательности описанного терапевтического антитела, специфичного к исследуемому опухолевому антигену, чтобы получить генетическую конструкцию scFv, кодирующую варибельную часть антитела. Итоговый фрагмент scFv должен специфически узнавать исследуемый антиген и связываться с ним с высокой аффинностью. В данной работе для таргетирования мембранных рецепторов на поверхности опухолевых клеток предлагается вместо scFv фрагмента использовать последовательности натуральных лигандов в составе безантительного рецептора CAR. Этот подход может позволить специфически таргетировать мембранные рецепторы и упростить этап дизайна при тестировании новых генетических конструкций CAR.

В ходе работы была получена конструкция Flt3-CAR, содержащая в качестве узнающей части полноразмерную последовательность Flt3-лиганда - натурального лиганда Flt3 рецептора. Получены Flt3-CAR Т-клетки и исследована их специфическая цитотоксичность на *in vitro* модели ОМЛ. При добавлении в ко-инкубационную среду рекомбинантного Flt3-лиганда наблюдалось дозозависимое ингибирование цитотоксичности Flt3-CAR Т-клеток по отношению к Flt3-позитивным ТНР-1.

Таким образом, в работе было показано, что для узнавания мембранных рецепторов на поверхности опухолевых клеток вместо scFv фрагментов антител в составе конструкции CAR можно использовать полноразмерные последовательности натуральных лигандов к рецепторам. Безантительные Flt3-CAR Т-клетки специфически узнавали Flt3-позитивные клетки-мишени на *in vitro* модели ОМЛ.

9.27. ПРИМЕНЕНИЕ СТАТИСТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ АНАЛИЗА СПЕКТРОВ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ ГЛИОМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Макаренко В.Ю.¹, Олейников В.А.^{1,2}, Браже Н.А.³, Залыгин А.В.^{1,2}

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²НИЯУ "МИФИ", Москва

³МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

vasilisa.makarlenko09@mail.ru

На сегодняшний день хирургическое вмешательство является основным методом лечения глиомы головного мозга. Проблема данного подхода заключается в том, что во время операции морфолог вынужден руководствоваться только визуальными данными и собственным опытом. Уточнение и повышение качества детектирования во время операции является важнейшим аспектом, который необходимо постоянно улучшать.

Метод рамановского рассеяния имеет неразрушающее действие и достаточно высокое разрешение, позволяющее определять пораженные опухолью ткани с клеточной точностью, однако такой подход требует разработки метода, позволяющего с высокой точностью проводить дифференциацию тканей.

Предопухолевые ткани содержат как клетки глиомы, так и клетки здорового белого вещества [1]. Классификация в данном исследовании была подобрана для оптимального разделения здоровых тканей и тканей внутри плотной опухоли.

Нормализация в соответствии с алгоритмом min-max была проведена для всех спектров. Затем были обучены 2 классификационные модели: логистическая регрессия и машина опорных векторов. Для обучения было использовано 468 спектров ткани доступа и 468 спектров тканей внутри плотной опухоли. Точность классификации методом логистической регрессии составила 81,3%, а для метода опорных векторов - 85,5%. Для прогнозирования класса спектра было выбрано пороговое значение вероятности 80%.

Далее были составлены 4 карты для предопухоловой области мозга, предсказывающие отнесение каждого из спектров к одному из классов. Такая карта должна предсказывать наличие и расположение раковых клеток в тканях предраковой области. В среднем алгоритм предсказывает 47% спектров (т.е. предсказания, прошедшие порог в обеих моделях) с точностью 97,4%.

Литература

1. Riva, Marco, Tommaso Sciortino, Riccardo Secoli, Ester D'amico, Sara Moccia, Bethania Fernandes, and others, 'Glioma Biopsies Classification Using Raman Spectroscopy and Machine Learning Models on Fresh Tissue Samples', *Cancers*, 13 (2021), 1073 <https://doi.org/10.3390/cancers13051073>.

9.28. ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РЯДА ОТЕЧЕСТВЕННЫХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ОТНОШЕНИИ СПЕРМАТОЗОИДОВ ПЕТУХА ПРИ УСЛОВИЯХ ХРАНЕНИЯ СПЕРМЫ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ДЛЯ ИСКУССТВЕННОГО ОСЕМЕНЕНИЯ

Марченко Д.С.^{1,3}, Емануйлова Ж.В.², Шрам С.И.³

¹Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина, Москва

²Селекционно-генетический центр "Смена", Сергиев Посад;

³НИЦ "Курчатовский институт", Москва

marchenkodaniil.email@gmail.com

Одной из наиболее острых проблем искусственного осеменения в птицеводстве, является отсутствие оптимальных способов санации и хранения спермы, обеспечивающих поддержание высокого качества семенного материала. Нами было проведено пилотное исследование, направленное на сравнение способности ряда отечественных антибактериальных препаратов (АП), применяемых в ветеринарии, оказывать цитотоксическое действие на сперматозоиды петуха. Всего исследовано 7 препаратов, относящихся к группам пенициллинов, аминогликозидов, фторхинолонов и макролидов. Сперму получали от петухов кросса "Смена" возрастом 7 мес. Свежеотобранную сперму разводили коммерческим разбавителем производства ВНИИГРЖ (г. Санкт-Петербург) и помещали для хранения на 4°C. Установлено, что 50% снижение жизнеспособности сперматозоидов после часовой обработки спермы АП достигалось при следующих концентрациях: Пенициллин/Стрептомицин (Пен/Стр) - 0,0482 мг/мл, Гентамицин (Ген) - 0,24 мг/мл, Энростин (Энр) - 0,26 мг/мл, Ципровет (Цип) - 0,45 мг/мл, Байтрил (Бай) - 5,9 мг/мл, Азикан (Ази) - 6,3 мг/мл и Тилозин (Тил) - 29,5 мг/мл. С учетом приводимых в литературе эффективных доз антибактериального действия исследуемых АП к наименее токсическим можно отнести препараты на основе макролидов - Тил и Ази, а также Пен/Стр, умеренно токсичным - Бай (фторхинолон), а к сильно токсичным - Ген (аминогликозид), Цип (фторхинолон) и Энр (фторхинолон+пептидный антибиотик). Обнаружено, что обработка спермы Бай, Ген, Энр и Цип в дозе 0,2 мг/мл приводила к значительному повышению внутриклеточного уровня активных форм кислорода (АФК), но не влияла на показатели митохондриального трансмембранного потенциала и концентрации супероксиданион радикала в митохондриях. Так же выявлена высокая положительная корреляция между показателями цитотоксичности АП и индуцированным уровнем АФК в сперматозоидах. Основываясь на полученных данных, можно констатировать, что наиболее безопасными препаратами являются макролиды Тил и Ази, а также Пен/Стр.

9.29. СИНТЕЗ БИМЕДИЦИНСКИХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ПРИРОДНЫХ БИОПОЛИМЕРОВ И ПАПАИНА

Матиев О.В., Ванюшенкова А.А., Белов А.А.

Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева,
Москва
olegmatieff@yandex.ru

Открытие и изучение свойств биополимеров позволяет создавать на их основе новые лекарственные препараты. Одним из самых перспективных биополимеров для изучения является хитозан (Хт). Олигохиты - продукт гидролитического расщепления гликозидных связей хитозановых молекул. Концентрации, вид действующих агентов, температура и время проведения реакции влияют на молекулярный вес и как следствие свойства продуктов гидролиза. Хитозан и олигохиты вызывают интерес из-за наличия широкого спектра биологических активностей (молекулярная масса, степень деацелирования и источник получения значительно влияют на это). Образовавшиеся олигохиты обладают противовоспалительным, иммуностимулирующим и антиоксидантным действиями. Также Хт и его производные обладают антимикробной активностью против многих культур бактерий, включая патогенную культуру *St. Aureus*.

Создание перевязочных композиций с использованием ферментов и изученных биополимеров позволяет не только стабилизировать фермент в процессе иммобилизации и курса лечения гнойно-некротических ран, но и упростить (уменьшив количество вводимых терапевтических агентов(ТА)) создание лекарственного препарата за счет образовавшихся олигохитов.

Мультиферментный комплекс папаин (Пап), получаемый из латекса дынного дерева, широко применяется в медицинской практике благодаря способности расщеплять некротизированные ткани, не воздействуя на новообразовавшиеся ткани.

С применением различных физико-химических методов было изучено взаимодействие Пап и Хт. Нами исследовались продукты взаимодействия Хт и Пап при создании ранозаживляющих перевязочных средств, как на способность ингибировать рост *St. Aureus* в концентрациях, соответствующих моделям развития гнойно-некротической раны, так и на антиоксидантную активность. Полученные данные свидетельствуют, что использованный Хт выступает не только в роле спейсора и стабилизатора в процессе иммобилизации Пап, но и как пролекарство. Продукты деструкции хитозана Пап обладают, как антимикробными, так и незначительными антиоксидантными свойствами. Наблюдался незначительный синергизм исследованных свойств в процессе комплексного взаимодействия Хт с Пап и ТА.

9.30. РАЗРАБОТКА МЕТОДА СИНТЕЗА ТРЕТ-БУТИЛ 3-АМИНО-2-((ТРЕТ-БУТОКСИКАРБОНИЛ)АМИНО)ПРОПАНОАТА - ИСХОДНОГО СОЕДИНЕНИЯ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ВЕЩЕСТВ С ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ПРОТИВОВИРУСНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

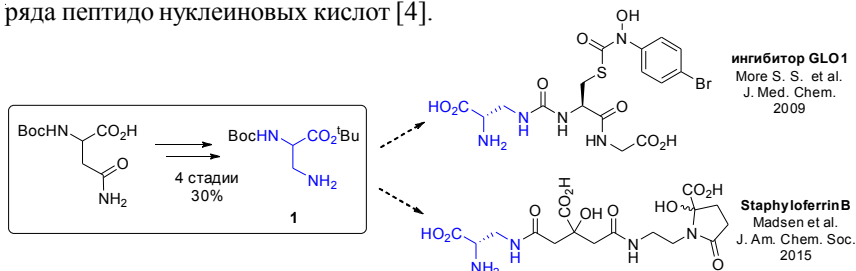
Махин А.П.^{1,2}, Андреанова А.А.^{1,3}, Ляхович М.С.¹, Ямпольский И.В.¹, Осипова З.М.¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва

³МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
shjerr@mail.ru

3-Амино-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)пропаноат Вос-DAP-O^tBu (**1**) регулярно используется в качестве субстрата в полном синтезе [1-4]. Например, Вос DAP O^tBu (**1**) было исходным соединением для получения ингибиторов глиоксалазы I (GLO1) [2] (фермента, который участвует в метаболизме метилглиоксала в пируват) и использовался в полном синтезе цитостатического препарата Блеомицина A2 [3]. Также 3-амино-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)пропаноат (**1**) является субстратом для получения ряда пептидо нуклеиновых кислот [4].



Нами была разработана новая схема синтеза трет-бутил 3-амино-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)пропаноата (**1**) из коммерчески доступного (трет-бутоксикарбонил)аспарагина с суммарным выходом 30% на 4 стадии. Данная методика позволила минимизировать количество стадий, требующих очистки колоночной хроматографией, и синтезировать Вос DAP-O^tBu (**1**) в мультиграммовых количествах. Полученные вещества были проанализированы и охарактеризованы методами ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-44-02024, <https://rscf.ru/project/22-44-02024/>.

Литература

1. Madsen, et al. (2015) Journal of the American Chemical Society, 137(28), 9117-9127.
2. More, S. S., & Vince, R. (2009) Journal of medicinal chemistry, 52(15), 4650-4656.
3. Zou, Y., et al. (2002). Journal of the American Chemical Society, 124(32), 9476-9488.
4. Yamasaki, et al. (2006). Journal of heterocyclic chemistry, 43(4), 1111-1113.

9.31. МЕТОДЫ, СНИЖАЮЩИЕ ФИЛЬТРАЦИЮ НАНОЧАСТИЦ ПЕЧЕНЬЮ

Миркасымов А.Б.¹, Деев С.М.^{1,2,3}

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²НИЯУ МИФИ, Москва

³Первый МГМУ имени И.М. Сеченова, Москва

mirkasymov@phystech.edu

Наночастицы активно применяются в клинической практике для лечения и диагностики злокачественных образований. Множество адресных наноагентов, доставляющих лекарство или визуализирующую метку к раковым клеткам или в область воспаления, находятся на стадии разработки. При этом многие частицы, демонстрирующие высокую эффективность в клеточных моделях, оказываются неэффективными *in vivo*. В первую очередь, это связано с быстрой фильтрацией нано- и микро-размерных частиц клетками Купфера в печени. Для улучшения эффективности доставки адресных агентов и уменьшения побочного накопления в печени мы разрабатываем методы, снижающие фильтрацию частиц печенью.

Одним из таких методов является обратимая блокада макрофагов низкотоксичными агентами. Такими блокирующими агентами могут выступать липосомы, полимерные наночастицы и другие наноматериалы [1]. Введение высоких доз блокирующих частиц приводит к их поглощению клетками Купфера и временному ингибированию фагоцитарной активности, что открывает окно для эффективного использования нанопрепаратов в организме.

Другой способ заключается в регуляции кровотока через капилляры печени. В печени кровоток значительно медленнее, чем в большом круге кровообращения. В артериях и венах наноматериалы перемещаются со скоростью 10-100 см/с, но замедляются до 200-800 мкм/с, когда попадают в синусоиды печени [2], что приводит к эффективному связыванию частиц макрофагами и последующему поглощению. Однако использование адrenomиметиков позволяет сузить кровеносные капилляры и как следствие увеличить скорость течения. Поэтому адресная доставка адrenomиметиков в печень положительно влияет на фармакокинетику наноагентов.

Разработка методов, уменьшающих фильтрацию наночастицы в печени, позволит эффективно применять наноагенты *in vivo* с низкой побочной токсичностью.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-90052.

Литература

1. Mirkasymov A.B. et al. In vivo blockade of mononuclear phagocyte system with solid nanoparticles: Efficiency and affecting factors //Journal of Controlled Release. - 2021. - Т. 330. - С. 111-118.
2. Tsoi, Kim M., et al. "Mechanism of hard-nanomaterial clearance by the liver." Nature materials 15.11 (2016): 1212-1221.

9.32. ЭКСПРЕССИЯ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ЭНДОМЕТРИОЗЕ

Мишанова А.В.³, Мазур Д.В.¹, Леваков С.А.², Кавиладзе М.Г.², Вехтева Е.Н.², Холошенко И.В.¹, Гондаренко Е.А.¹, Цетлин В.И.¹, Антипова Н.В.¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва

³МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
almish2002@gmail.com

Вступление. Никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (нАХР) представляют собой гетерогенное семейство ионных каналов, экспрессируемых в центральной нервной системе, которая, реагируя на эндогенные нейромедиаторы, такие как ацетилхолин и никотин, участвует в различных физиологических процессах. Хорошо известна роль данных рецепторов в передаче нервного импульса, но вместе с тем, существуют и функции нАХР, относящиеся к регуляции других аспектов метаболизма клетки и организма в целом. На сегодняшний день выявлена связь нАХР с многими заболеваниями организма человека, одним из которых является эндометриоз. Эндометриоз представляет собой патологическое состояние, при котором происходит разрастание ткани, подобной эндометрию, за пределами матки, тем самым являясь серьезным заболеванием, значительно снижающим качество жизни пациента (бесплодие, дисменорея, хроническая тазовая боль).

Цель. Целью данного исследования было выявить и оценить уровень экспрессии различных субъединиц нАХР у пациенток репродуктивного возраста с эндометриозом разной степени тяжести.

Материалы и методы. В исследование было включено 46 пациенток репродуктивного возраста, 23 из которых не имели гинекологической патологии и были включены в группу контроля. Основная группа исследования состояла из 23 пациенток с диагнозом эндометриоз, при этом локализация очагов у каждой исследуемой женщины была разная. У обеих групп был произведен забор крови, а также исследовался биоптат очага эндометриоза у группы исследования. Оценка уровня экспрессии $\alpha 7$, $\alpha 4$ и $\alpha 9$ субъединиц нАХР производилась с использованием метода ПЦР в реальном времени.

Результаты и выводы. Уровень экспрессии всех субъединиц нАХР в образцах крови у пациенток в группе исследования превышал показатели, полученные в группе контроля. Более того, у пациенток с тяжелой степенью эндометриоза уровень экспрессии нАХР выше, чем у пациенток с единичными очагами эндометриоза. Основываясь на полученных данных, мы сделали вывод, что повышенная экспрессия $\alpha 7$, $\alpha 4$ и $\alpha 9$ субъединиц нАХР у пациенток с эндометриозом прямо пропорциональна степени тяжести заболевания.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 21-74-10092.

9.33. СОЗДАНИЕ ПОКРЫТИЯ ИЗ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПОВЕРХНОСТИ НАНОЧАСТИЦ С АНТИСТОКСОВОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИЕЙ

Морозова С.А.^{1,2}, Демина П.А.^{1,3}, Кошелев А.В.³, Акасов Р.А.^{1,3}, Крылов И.В.³, Хайдуков Е.В.^{1,3}, Генералова А.Н.^{1,3}

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²МИРЭА - Российский технологический университет, Москва

³ФНИЦ "Кристаллография и фотоника" РАН, Москва

sonyamorozova@gmail.com

Для проведения биомедицинских исследований широкое применение нашли флуоресцентные метки. Среди таких меток наибольший интерес вызывают нанокристаллы с антистоксовой флуоресценцией (НАФ), которые состоят из неорганической кристаллической матрицы NaYF_4 , легированной трехвалентными ионами редкоземельных металлов - Er^{3+} , Yb^{3+} , Tm^{3+} . Такие нанокристаллы возбуждаются спектрально выгодным ближним ИК-излучением, лежащим в "окне прозрачности" биологической ткани, характеризующемся минимальным поглощением и рассеянием. Эти частицы обладают большим стоксовым сдвигом, узким пиком эмиссии, низкой токсичностью, химической и физической стабильностью. Однако гидрофобный характер поверхности требует ее модификации с целью создания биосовместимых, коллоидно-стабильных и не вызывающих иммунного ответа организма реагентов.

В данной работе были разработаны методы модификации поверхности НАФ гиалуроновой кислотой (ГК), для которой характерна высокая биоразлагаемость и биосовместимость, а также низкая токсичность. НАФ, предварительно гидрофилизированные с использованием высоко-(полиэтиленмин) и низкомолекулярных (этилендиамин, гексаметилендиамин, аминокaproновая кислота) аминов, модифицировали с помощью ГК двумя способами: 1) путем формирования ковалентной связи с использованием метода карбодиимидной активации; 2) путем электростатических взаимодействий положительно заряженных НАФ и отрицательно заряженной ГК. Дисперсионные характеристики и концентрация ГК на поверхности НАФ, определенная спектрофотометрически по количеству родамина, включенного в оболочку из ГК, продемонстрировали, что оптимальное покрытие из ГК формируется при модификации аминокaproновой кислотой. Второй метод модификации основан на фотоиндуцированной реакции сшивки ГК, содержащей двойные связи на поверхности НАФ, под действием света из ближнего ИК-диапазона. Простой, быстрый, одностадийный процесс получения прочной связи ГК с поверхностью под действием света продемонстрировал большой потенциал для управления характеристиками покрытия из ГК (толщина, плотность, отсутствие десорбции).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках проекта № 18-79-10198.

9.34. ТЕРМОГЕНЕТИЧЕСКАЯ АКТИВАЦИЯ НЕЙРОНОВ *IN VIVO*

***Мухаметшина Л.Ф.*^{1,3}, *Солотёнков М.А.*³, *Солюс Г.М.*¹, *Джаппи Д.*⁴,
Мальцев Д.И.^{1,4}, *Ланин А.А.*^{3,5}, *Федотов И.В.*^{3,5}, *Федотов А.Б.*^{3,5},
*Соколов Р.А.*², *Мощенко А.А.*⁴, *Розов А.В.*⁴, *Жёлтиков А.М.*^{3,6},
Подгорный О.В.^{1,2}, *Белоусов В.В.*^{1,2,4}**

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

²РНИМУ имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

³МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

⁴Федеральный центр мозга и нейротехнологий, Москва, Россия

⁵Российский квантовый центр, Сколково, Россия

⁶Department of Physics and Astronomy, Texas A&M University, College Station TX, USA

mukhametchinal@gmail.com

Возможность искусственно управлять активностью нервных клеток позволяет решать важные задачи, касающиеся принципов передачи и обработки информации в мозге. Метод оптогенетики внес огромный вклад в развитие нейронауки, но он также имеет недостатки такие как инвазивность, фототоксичность, и ограниченная транслируемость в медицину. Новый предлагаемый нами метод термогенетики заключается в стимуляции клеток нагреванием при экспрессии в них термочувствительных каналов семейства TRP. Данные каналы являются неселективными катионными каналами, а кальций, который они пропускают, участвует во множестве процессов, в том числе в проведении электрического импульса. Преимуществом этого метода является то, что нагрев можно производить с помощью ИК-излучения и даже сфокусированного ультразвука.

Для работы с мышами мы выбрали TRPV1 канал человека с температурным порогом активации в 42-43°C. Сначала функциональность канала проверили *in vitro* на линейных культурах кальциевым имиджингом с использованием кальциевого сенсора GCaMP6s. После чего для тестирования каналов *in vivo* мы провели стереотаксическое введение в локомоторный отдел мезенцефалона мыши вирусов AAV, один из которых кодировал последовательность канала, а другой - кальциевый сенсор. В ту же область была вживлена ферула для проведения ИК-излучения и регистрации интегрального сигнала GCaMP6s. При стимуляции этой зоны мы видели значимое повышение уровня кальция, что совпадало с увеличением скорости передвижения мыши, то есть она переходила бег. Таким образом мы показали, что метод термогенетики применим на мышах и представляется перспективным методом в фундаментальной и прикладной нейробиологии.

Проект поддержан Программой развития генетических технологий на 2019-2027 годы Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, грант № 075-15-2019-1789.

9.35. РАЗРАБОТКА ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМЫХ САМОСОБИРАЮЩИХСЯ БЕЛКОВЫХ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ ИНКАПСУЛИНА ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ К HER2-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ РАКОВЫМ КЛЕТКАМ

Обозина А.С.^{1,2}, Зверева С.Д.¹, Шипунова В.О.¹

¹Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

²Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва

anastasiya.obozina@gmail.com

Несмотря на значительную перспективу использования наночастиц для терапии онкологических заболеваний, в медицине до сих пор отсутствуют одобренные для клинического применения адресные наночастицы, ввиду проблем, связанных, в том числе, со стандартизацией их параметров и невоспроизводимости химического синтеза. В то же время, перечисленные проблемы отсутствуют в области разработки наночастиц на основе белков, способных к самосборке в наночастицы, для направленной доставки, поэтому эта область наномедицины является критически важной на данный момент. Генетически кодируемые конструкции, нарабатываемые в бактериальных продуцентах, позволяют получать воспроизводимые образцы белков, которые единственно возможным образом далее самособираются в наночастицы. Использование данных наночастиц как носителей других белков - например, адресных узнающих полипептидов, открывает безграничные возможности для адресной доставки в современной биомедицине.

В данной работе:

1. Были получены и охарактеризованы адресные генетически модифицированные белковые наночастицы на основе инкапсулина - белка термофильных бактерий *Thermotoga maritima*.

2. Полученные наночастицы были загружены терапевтическим препаратом доксорубицином.

3. Методом проточной цитометрии было показано, что полученные инкапсулиновые наночастицы специфично взаимодействуют с клетками, сверхэкспрессирующими HER2-рецептор.

Полученные генетически кодируемые адресные наночастицы являются перспективной платформой для создания как средств диагностики, так и терапии онкозаболеваний и являются перспективными кандидатами для масштабного биотехнологического производства для задач биомедицины.

Исследование поддержано Министерством образования и науки Российской Федерации, соглашение #075-00958-21-05 (проект 730000F.99.1.BV10AA00006).

9.36. ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МОРСКИХ ДИНОФЛАГЕЛЛЯТ *Prorocentrum cordatum*, КАК ОСНОВЫ ДЛЯ ДИЗАЙНА НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ЭФФЕКТИВНОГО КОНТРОЛЯ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Печковская С.А.¹, Филатова Н.А.¹, Князев Н.А.^{1,2}

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический), Санкт-Петербург
sapechkovskaya@gmail.com

Метастазирование в 90% случаев является причиной смерти от онкологических заболеваний. Однако в арсенале современной противоопухолевой терапии антиинвазивные и антиметастатические препараты как особая категория лекарственных средств практически отсутствуют. Перспективным представляется подход к поиску лекарственных средств, называемых мигростатиками, способных подавлять метастатический потенциал опухолевых клеток. Согласно современным данным, около 60% лекарств, используемых в онкологии, происходят из природных источников. На фоне этого растет интерес к биоактивным веществам из морских организмов, в том числе одноклеточных. Особый интерес в этой связи представляют собой динофлагелляты - микроводоросли, способные продуцировать множество токсинов и биоактивных веществ, таких как пигмент перидинин. В данной работе биологически активные молекулы перидинина экстрагировали из клеток морских динофлагеллят *Prorocentrum cordatum* с использованием этанола или диметилсульфоксида (ДМСО). Полученные экстракты были спектрофотометрически охарактеризованы. В качестве опухолевых клеток-мишеней использовали культуры аденокарциномы толстой кишки мыши СТ-26, иммортализованного миелолойкоза человека K562 и мышинной гепатомы MG22a. Токсичность экстрагированного перидинина *in vitro* определяли с помощью MTS-теста, а влияние на апоптоз оценивали с использованием проточной цитометрии. Влияние на скорость миграции клеток оценивали с помощью скрэтч-теста. Под воздействием перидинина, выделенного из биомассы водорослей с использованием ДМСО, число клеток-мишеней снижалось на 40% через 72 часа после эксперимента. В случае обработки препаратами, полученными при экстракции этанолом, количество клеток-мишеней уменьшалось только на 20%. Количество апоптотических клеток под действием перидинина не изменялось. В целом, препараты, выделенные как с помощью ДМСО, так и этанола, приводили к снижению потенциала подвижности клеток-мишеней. Полученные данные позволяют предположить, что перидинин, выделенный из клеток динофлагеллят *P. cordatum*, не только обладает цитостатической активностью, но и способен снижать подвижность опухолевых клеток, что открывает широкие перспективы для изучения действия полученных экстрактов *in vivo*.

9.37. МЕХАНИЗМ РАЗВИТИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ В КЛЕТКАХ ПАЦИЕНТОВ С ДИАГНОЗОМ "ЭНДОМЕТРИОЗ"

Погонялова М.Ю., Попов Д.Ю., Микенькина М.А., Уколова П.А.

НПЦ биомедицинской фотоники ОГУ имени И.С. Тургенева, Орёл
mpogonalova@gmail.com

Эндометриоз - это хроническое воспалительное заболевание репродуктивной системы у женщин, когда ткани, идентичные по структуре и функциям с эндометрием, разрастаются за пределами границ нормальной локализации слизистой оболочки матки. На сегодняшний день не существует эффективного лечения эндометриоза, что подтверждается высоким количеством рецидивов (до 74% случаев), которые сопровождаются рядом осложнений. Все это говорит о том, что до сих пор не до конца понятен патогенез данного заболевания. В связи с тем, что значительную роль в развитии эндометриоза играют повышенная продукция активных форм кислорода (АФК) и, возможно, связанная с этим митохондриальная дисфункция, целью настоящей работы стало детальное изучение указанных факторов в клетках пациенток с различными формами эндометриоза.

Анализ механизма поддержания митохондриального мембранного потенциала показывает наличие патологии в случае первично выделенных клеток: происходит деполяризация митохондрий в ответ на введение ингибитора F1-F0-АТФ-синтазы, что говорит о работе данного комплекса в инверсном режиме. При этом в случае ряда образцов зафиксирована нормализация функции митохондрий после культивирования в ростовой среде, что связано с присутствием пирувата, который, вероятно, способствует увеличению митохондриального пула НАДН. Помимо этого, как в первично выделенных клетках, так и в клетках после культивирования наблюдается повышенный уровень продукции АФК. При этом оценка уровня восстановленного глутатиона, а также скорости перекисного окисления липидов позволяет характеризовать развитие патологии в различных образцах как острое (наблюдаются признаки окислительного стресса), так и хроническое (повышенный уровень антиоксидантной защиты). Показано, что преимущественное образование АФК происходит в цитоплазме в результате работы NADPH-оксидазы. На основании совокупности полученных экспериментальных данных можно сделать вывод о том, что при эндометриозе имеет место хроническая гиперпродукция АФК. При этом в клетках реализуется механизм компенсации происходящих нарушений, приводящих к дефициту субстрата I комплекса дыхательной цепи и развитию митохондриальной дисфункции.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации № 075-15- 2022-1095.

9.38. СОЗДАНИЕ МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МЕХАНИЗМОВ ПАТОГЕНЕЗА БУЛЛЕЗНОГО ЭПИДЕРМОЛИЗА ПРОСТОГО ТИПА (БЭП ИЛИ EBS) И ПОИСКА СРЕДСТВ НАПРАВЛЕННОЙ ТЕРАПИИ

Подмосковников Г.С.^{1,2}, Гурская Н.Г.¹

¹РНИМУ имени Н.И. Пирогова, Москва

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

podmoskovnikovr@yandex.ru

Одним из наиболее известных генодерматозов является группа заболеваний, называемая врожденным буллезным эпидермолизом (ВБЭ¹). Это неизлечимое орфанное заболевание. У людей с ВБЭ возникают пузыри и эрозии в коже и на слизистых оболочках внутренних органов в ответ на незначительные механические воздействия. Выделяют несколько типов ВБЭ: простой (ПБЭ²) наиболее распространенная форма, пограничный (ПоБЭ³), дистрофический (ДБЭ⁴) и синдром Киндлер. Среди 4-х форм ВБЭ, буллезный эпидермолиз простого типа (БЭП), является наиболее распространенным. Он проявляется в виде поражений (пузырей и эрозий) в эпидермисе, за счет мутаций в генах, кодирующих кератины 5 и 14 (основные структурные белки промежуточных филаментов клеток базального слоя эпидермиса).

Проводимое исследование показало наличие мутации в гене KRT5, кодирующего белок кератин 5, приводящей к возникновению ВБЭ и возможность создания модельной системы на основе иммортализованной линии пациент специфических клеток.

¹ Врожденный буллезный эпидермолиз

² Простой буллезный эпидермолиз

³ Пограничный буллезный эпидермолиз

⁴ Дистрофический буллезный эпидермолиз

9.39. СРАВНЕНИЕ АДСОРБЦИИ РАСТВОРИМЫХ АНАЛИТОВ НА ЭЛЕКТРОФОРМОВАННЫЕ МЕМБРАНЫ ПРИ СВОБОДНОЙ ДИФФУЗИИ И ПРИ НАПРАВЛЕННОМ ПЕРЕНОСЕ

Прусакوف К.А.^{1,2}, Сидорова А.Е.², Маслакова А.А.², Павлова Е.Р.¹,
Багров Д.В.^{1,2}

¹ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России, Москва

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

kaprusakov@gmail.com

В современной лабораторной и медицинской практике широко используется специфический иммуноанализ, основанный на последовательной сборке молекулярного "сэндвича" на твердой поверхности. В ходе анализа подложка с иммобилизованными на ней связывающими специфическими агентами селективно улавливает из многокомпонентной смеси искомый аналит, для его дальнейшей детекции. Увеличение активной площади поверхности такой подложки является одним из способов улучшить предел обнаружения, а также сократить время анализа при работе с малыми концентрациями аналита [1]. Для создания подложки, имеющей высокую удельную поверхность, можно использовать метод электроспиннинга (электроформования). Он открывает широкое поле возможностей как при выборе материала, так и при оптимизации его структуры для увеличения активной поверхности.

Однако, сложная микро- и наноструктура подложки может затруднять диффузию аналита и приводить к тому, что реакция специфического связывания становится диффузионно-ограниченной. Наиболее простой путь преодоления данного ограничения заключается в принудительной прокачке раствора пробы сквозь мембрану.

В данной работе с использованием электроформованных мембран из полидиоксанона показано, что направленный перенос обеспечивает в 2-3.5 раза более интенсивную адсорбцию аналита на подложку, чем свободная диффузия. В качестве аналитов использовали бычий сывороточный альбумин (неспецифическая адсорбция) и интерлейкин-1бета (специфическое связывание). Полученный результат может быть использован для разработки высокочувствительных иммуноаналитических систем.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 21-74-10042.

Литература

1. Pavlova E. et al. Optical sensors based on electrospun membranes-principles, applications, and prospects for chemistry and biology //New Journal of Chemistry. - 2022.

9.40. ДЛИННАЯ НЕКОДИРУЮЩАЯ РНК NEAT1_1 ВЛИЯЕТ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК НЕЙРОНАЛЬНЫХ КУЛЬТУР ПРИ СТРЕССЕ

Пукаева Н.Е.¹, Овчинников Р.К.^{1,2}, Кухарский М.С.^{1,2}

¹ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН,
Черноголовка

²РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва
nadya.pukaeva@mail.ru

Длинные некодирующие РНК (днРНК) играют роль тонких регуляторов работы белок-кодирующих генов и ассоциированы с целым рядом заболеваниями нервной системы. К числу таких днРНК относится NEAT1 (Nuclear Enriched Abundant Transcript 1). Изменение уровня NEAT1 в мозге наблюдается при ряде нейродегенеративных заболеваний и психических расстройств. При этом непосредственная роль, которую NEAT1 играет в нормальной физиологии мозга, как и механизмы участия NEAT1 в развитии патологических процессов, остаются недостаточно изученными. Существующие данные свидетельствуют о том, что NEAT1 является стимул/стресс-активируемым транскриптом, на клеточном уровне. Целью данного исследования являлась оценка влияния повышенного уровня днРНК NEAT1_1 на выживаемость нервных клеток при стрессе. Для этого использовались первичные нейрональные культуры, полученные от трансгенных мышей NEAT1_1Tg, экспрессирующие в нервной системе короткую изоформу NEAT1_1 человека. Клетки подвергались действию факторов, вызывающих разные типы клеточного стресса: для индукции стресса эндоплазматического ретикулума (ЭПР) использовался ингибитор протеасом MG132, репликативного стресса - камптотецин, температурного шока - нагрев до 44°C. Далее проводилась оценка апоптотической гибели клеток методом иммуноцитохимического окрашивания антителами к активированной форме каспазы 3 (CC3). В результате было показано, что при обработке клеточных культур камптотецином, количество CC3-позитивных клеток было значимо ниже в трансгенных культурах в сравнении с контрольными. В то же время, в условиях температурного шока, наоборот, наблюдалось увеличение числа апоптотических клеток в культурах экспрессирующих NEAT1_1. При ЭПР-стрессе значимых различий не обнаруживалось. Таким образом эктопическая экспрессия NEAT1_1 поразному влияет на выживаемость клеток при стрессе в зависимости от типа стрессового воздействия.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ № 22-25-00645.

9.41. РАЗРАБОТКА КРИТЕРИЕВ ДЛЯ ВЕРИФИКАЦИИ ХИМЕРНЫХ ТРАНСКРИПТОВ, ОБНАРУЖЕННЫХ В ХОДЕ АНАЛИЗА ДАННЫХ РНК-СЕКВЕНИРОВАНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

Рабушко Е.Н.^{1,2}, Сорокин М.И.^{1,2}, Суццова М.В.^{1,2}, Буздин А.А.^{1,2}

¹Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

²Первый МГМУ имени И.М. Сеченова МЗ РФ, Москва

elnrabush@gmail.com

Химерные гены, образующиеся в результате слияния частей двух генов, - характерная черта генома раковых клеток. Особый интерес представляют химерные гены рецепторных тирозинкиназ (РТК) из-за их значимости для прогнозирования заболевания и выбора терапии. Ввиду высокой клинической релевантности разработаны различные подходы для детекции химерных генов РТК и продуктов их экспрессии. Так, методы флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) и ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) - стандартные подходы, которые позволяют найти только известные химерные продукты. Для поиска одновременно новых и уже описанных химерных транскриптов применяют методы, основанные на анализе данных РНК-секвенирования. Однако разработанные алгоритмы наряду с истинными находят еще большее число артефактных слияний. Поэтому для верификации результатов часто используют дополнительную экспериментальную проверку, увеличивающую время анализа. Валидация особенно важна при анализе данных РНК-секвенирования фиксированных в формалине парафинизированных (FFPE) образцов, распространенного в клинической практике типа биоматериала, из-за повышенной степени деградации РНК и образования артефактных слияний в ходе пробоподготовки. Выявление критериев для аналитической верификации химерных транскриптов по данным РНК-секвенирования различных типов биоматериала повысит качество детекции химерных генов, а следовательно, увеличит эффективность лечения ряда случаев онкозаболеваний.

В представленной работе проанализированы профили РНК-секвенирования 862 экспериментальных образцов и найдены 36 потенциальных химерных транскриптов генов РТК. Проведена экспериментальная валидация методом ОТ-ПЦР с последующим секвенированием по Сэнгеру потенциальных химерных транскриптов в образцах, биоматериалы которых были доступны. Мы установили характерные черты для подтвержденных экспериментально химерных транскриптов: сохранение открытой рамки считывания и тирозинкиназного домена, дисбаланс покрытия экзонов РТК до/после точки химеризации, для большинства подтвержденных химерных транскриптов найдено больше одного химерного прочтения в данных РНК-секвенирования. Полученные результаты могут служить основой для создания алгоритма для автоматической аннотации химерных транскриптов РТК по данным РНК-секвенирования.

9.42. ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ, АКТИВИРУЕМЫХ ПРОЛИФЕРАТОРОМ ПЕРОКСИСОМ В МОЗГЕ КРЫС И ЭФФЕКТЫ ИХ АГОНИСТОВ В ЛИТИЙ-ПИЛОКАРПИНОВОЙ МОДЕЛИ ЭПИЛЕПСИИ

Рогинская А.И.^{1,2}, Коваленко А.А.¹, Демина А.В.¹, Зубарева О.Е.¹

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургский политехнический университет им. Петра Великого, Санкт-Петербург

roganna5500@gmail.com

В последнее время активно обсуждается нейропротекторная роль рецепторов, активируемых пролифератором пероксисом (PPARs) в различных нейропатологиях, включая эпилепсию, а применение их агонистов рассматривается как новый перспективный метод противоэпилептической терапии. Между тем экспрессия генов PPARs в мозге в процессе эпилептогенеза остается малоизученной.

Целью данной работы явилось изучение экспрессии в мозге крыс генов PPARs (α, β/d, γ) и исследование эффектов их агонистов в литий-пилокарпиновой модели эпилепсии.

Нами методом ОТ-ПЦР в реальном времени показано, что экспрессия генов различных типов PPARs в структурах мозга изменяется в процессе эпилептогенеза. Наиболее выраженные нарушения обнаружены в отношении гена Pparg: снижение его экспрессии наблюдалось в латентную и хроническую фазы модели в различных областях мозга. Уменьшение экспрессии гена Pparg/d наблюдалось только в медиальной префронтальной коре в хроническую фазу модели. Эффекты введенных агониста рецепторов PPARα фенофибрата были негативным: негативно влиял на вес животных, усиливал пилокарпин-индуцированное повышение тревожности крыс. Пиоглитазон, агонист рецепторов PPARγ, показал выраженный нейропротекторный эффект: вес тела (который после пилокарпин-индуцированных судорог падает) у леченных животных восстанавливался быстрее, чем у нелеченных; введение пиоглитазона нивелировало повышенный уровень тревожности, гиперактивность (увеличение времени локомоции), и нарушения социального поведения, наблюдаемые у экспериментальных крыс в Открытом поле и Социальном тесте. Пиоглитазон также ограничивал развитие нейровоспалительных процессов в гиппокампе, подавляя повышенную экспрессию генов фактора некроза опухоли альфа, Nod-подобного рецепторного белка 3 и аллотрансплантатного воспалительного фактора 1. Он также усиливал экспрессию противовоспалительного цитокина Il1β. Данные результаты позволяют рассматривать пиоглитазон как перспективный препарат для лечения эпилепсии.

9.43. ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОНУТРИЕНТОВ, ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ В ГЕЛЕОБРАЗОВАТЕЛИ НА ОСНОВЕ ПОЛИСАХАРИДОВ ВОДОРОСЛЕЙ

Рыбчинская Э.Е.

Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь
rybchinskaya_elvira@mail.ru

На сегодняшний день, существует проблема несовместимости определенных витаминов, поскольку такие витамины являются антагонистами друг друга. И поэтому их необходимо разделять в пространстве и времени.

Для решения этой проблемы можно использовать метод капсулирования в различные слои капсул разных витаминов-антагонистов. Тогда благодаря разному времени растворения определенных слоев капсулы и разной среде растворения (желудочная среда, кишечная среда и т.д.) несовместимые витамины не будут совмещаться и будут полноценно усваиваться. В качестве модельных витаминов взяты рутины (витамин Р) и аскорбиновая кислота (витамин С). В качестве гелеобразователей взяты: агар-агар, альгинат натрия и каррагинан.

В данной работе мы исследовали изменения количественного содержания рутина и аскорбиновой кислоты в растворах в зависимости от вида гелеобразного агента под влиянием различных факторов с помощью методов титрометрии (алкилометрии и перманганатометрии) и тонкослойной хроматографии.

В ходе исследования были выбраны и теоретически обоснованы оптимальные условия хроматографирования аскорбиновой кислоты в тонком слое сорбента: элюент - Этанол-гексан (3:1); Этилацетат-ледяная уксусная кислота (8:2); Бензол-этанол-уксусная кислота-ацетон (70:20:5:5); проявитель - пары йода, 5% спиртовый раствор фосфорномолибденовой кислоты.

Также было исследовано изменения количественного содержания рутина и аскорбиновой кислоты в различных видах гелеобразователей от продолжительности хранения. Максимальное количество рутина и аскорбиновой кислоты в полученных растворах с различными желирующими агентами, хранящимися меньше всех (в течение 42-х дней проводились исследования растворов). Больше содержание рутина сохраняется в Агар-агаре (22,5%), меньшее - в Альгинате натрия (15%); большее содержание аскорбиновой кислоты сохраняется в Альгинате натрия (17,6%), меньшее - в Каррагинане (14%). Максимальное содержание рутина было в Агар-агаре (97%), максимальное содержание аскорбиновой кислоты было в Альгинате натрия (96%). После проведенной работы можно сделать вывод, что при капсулировании в разные слои капсул разных витаминов несовместимые витамины не будут совмещаться и будут полноценно усваиваться в организме, ведь определенные слои капсул имеют разное время растворения и разную среду растворения (в данной работе использовалась имитация желудочной и кишечной сред).

9.44. КОНФОРМАЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГЕМОГЛОБИНА ПРИ ПАТОГЕНЕЗЕ ИДИОПАТИЧЕСКОЙ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Слатинская О.В.¹, Аллахвердиев Э.С.², Мартынюк Т.В.², Родненков О.В.², Максимов Г.В.¹

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

²НМИЦ кардиологии МЗ РФ, Москва

slatolya@mail.ru

Кислород-транспортная функция эритроцитов зависит не только от гемодинамики и сродства гемоглобина (Гб) к кислороду, но и от конформации Гб. Одним из способов диагностики конформации Гб в эритроцитах крови является Раман-спектроскопия, которая позволяет оценивать содержание и конформацию Гб в эритроцитах крови без предварительной пробоподготовки. Идиопатическая легочная гипертензия (ИЛГ) редкая форма легочной гипертензии с неустановленной этиологией, и сложным патогенезом с выраженным повышением общего легочного сосудистого сопротивления и давления в легочной артерии и часто прогрессирующим течением с развитием декомпенсации правого желудочка, и тяжелым прогнозом. "Золотым стандартом" для верификации диагноза ИЛГ является катетеризация правых отделов сердца с точным измерением давления в легочной артерии и определением сердечного выброса, ОЛСС. Объективная оценка функциональной способности больных с ИЛГ необходима для оценки тяжести нарушений, которые развиваются при данном заболевании. Для оценки такого статуса используется тест 6 минутной ходьбы. Принято выделять 4 функциональных класса (ФК), где 1 ФК - Отсутствуют ограничения физической активности; 4 ФК - пациенты не способны переносить любую физическую нагрузку без появления вышеуказанных симптомов. Цель работы состояла в изучении кислород-транспортной функции эритроцитов крови пациентов с ИЛГ разного функционального класса.

Для исследования конформации и способности гемоглобина связывать O_2 в правых отделах сердца у пациентов с ИЛГ, проводили отбор крови из кубитальной вены (КВ) у 40 пациентов с подтвержденным ИЛГ и регистрировали Рамановские спектры при 532 нм.

В ходе исследования было установлено, что характер изменения конформация Гб отличны в пробах цельной крови и суспензии эритроцитов. Отметим, что для больных ИЛГ 1-4 ФК величины соотношения интенсивностей полос Рамановского спектра $I_{1375}/(I_{1355}+I_{1375})_2$ характеризующего сродство к O_2 ниже на 20-25% относительно контрольной группы. Для суспензии эритроцитов наблюдается увеличение сродства к O_2 для Гб эритроцитов 2 ФК на 10%, для 3 ФК на 14% и на 20% для 4 ФК. На основании полученных данных можно предположить, что на способность Гб связывать O_2 при ИЛГ оказывают существенное влияние компоненты плазмы, воспалительные процессы и увеличение жесткости сосудистой стенки.

9.45. СИСТЕМА ГУАНИЛИНА/УРОГУАНИЛИНА КИШЕЧНИКА И ПОЧКИ САМОК КРЫС: ВЛИЯНИЕ ХОЛЕСТАЗА

Снигирева Е.Д., Мингалёва Н.С., Балакина Т.А., Смирнова О.В.

МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

ilizotra@gmail.com

Гуанилин (ГН) и урогуанилин (УГН) относятся к семейству натрийуретических пептидов и участвуют в поддержании водно-солевого гомеостаза за счет регуляции транспорта воды и электролитов. Гуанилины системно поступают из кишечника и локально продуцируются в почке в ответ на пероральное поступление соли, регулируя её всасывание и выведение из организма. Холестаз - патология, при которой нарушается поступление желчи в пищеварительный тракт, что сопровождается нарушением водно-электролитного баланса. В работе проверяется гипотеза о том, что гуанилины могут быть посредниками реализации изменений водно-электролитного баланса при холестазах и в дальнейшем являться мишенями терапии данной патологии.

Исследование проводили на самках крыс двух групп: норма - ложнооперированные, и холестаз - животные через 14 дней после перевязки общего желчного протока. Сдвиги водно-солевого баланса оценивали по изменению концентраций ионов в сыворотке и моче. Изменения экспрессии гуанилинов и их рецептора в тканях двенадцатиперстной и толстой кишки, а также коркового и внешнего мозгового слоя почки тестировали методом ПЦР в реальном времени. Статистический анализ проводили в программе GraphPad Prism 8. Проверку на нормальность проводили при помощи теста Шапиро-Уилка.

Показано статистически значимое уменьшение концентрации Cl^- в крови при холестазах, а также достоверное увеличение экскреции и суточного клиренса натрия и бикарбонатов.

Уровень экспрессии гена гуанилина в обоих отделах кишечника и коре почки достоверно не менялся. При этом во внешнем мозговом слое почки обнаружено статистически значимое увеличение его экспрессии при холестазах по сравнению с нормой. Для урогуанилина аналогично: в кишечнике и коре почки уровень экспрессии гена достоверно не менялся, однако в мозговом слое почки наблюдалось его достоверное увеличение при холестазах. Экспрессия гена рецептора гуанилинов - гуанилатциклазы C , в коре почки исчезала при холестазах.

Таким образом, впервые показано, что гуанилин и урогуанилин участвуют в компенсаторных механизмах регуляции водно-электролитного баланса при холестазах, но только на уровне почки. Также можно предположить, что в коре почки при данной патологии гуанилины начинают действовать через другой тип рецепторов, поскольку GC-C перестает экспрессироваться, а уровень ГН и УГН соответствует норме.

9.46. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНДЕКСА АВИДНОСТИ АУТОАНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ ТКАНИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ МУЛЬТИПЛЕКСНОГО АНАЛИЗА НА ОСНОВЕ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО ГИДРОГЕЛЕВОГО БИОЧИПА

Соколова В.В.

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва
sokolovavera99@mail.ru

Введение. Распространённой аутоиммунной эндокринной патологией в популяции являются аутоиммунные заболевания щитовидной железы (ЩЖ). Характерная особенность данных заболеваний - высокая частота встречаемости аутоантител к антигенам ткани ЩЖ среди здоровых лиц, что требует детальной характеристики выявляемых аутоантител. Предполагается, что аутоантитела состоят из поликлональной смеси с различной авидностью к антигену. Авидность - это бивалентные и мультивалентные взаимодействия между антигеном и антителами.

Цель работы. Разработка специализированного биочипа и реализация методики мультиплексного анализа аутоантител с одновременным определением индекса авидности аутоантител к каждому из иммобилизованных антигенов ткани ЩЖ и белков-кандидатов.

Материалы и методы. Создан биочип, содержащий иммобилизованные белки и конъюгаты: тиреоглобулин, тиреопероксидаза, карбоангидраза 2, пируваткиназа, трийодтиронин Т3 (конъюгат с HRP), тироксин Т4 (конъюгат с HRP), пендрин, натрий-йодный симпортер. Методика мультиплексного анализа на биочипе включала несколько стадий: инкубация на биочипе образца сыворотки крови, при этом в элементах биочипа происходило образование комплексов иммобилизованных аутоантигенов с аутоантителами; добавление хаотропного агента на биочип и детекция неразрушенных комплексов "иммобилизованный антиген - аутоантитело" с использованием флуоресцентно-меченных антивидовых антител против иммуноглобулинов человека класса G. Для определения индекса авидности аутоантител рассчитывали отношение флуоресцентного сигнала, полученного от каждого антигена при анализе, включающего стадию обработки хаотропным агентом, к результату измерения без такой обработки.

Результаты. Разработанный метод апробирован на образцах сыворотки крови пациентов с аутоиммунными заболеваниями ЩЖ и здоровых доноров. Показано, что применение метода с определением индекса авидности позволяет уменьшить долю ложноположительных результатов и получить новые данные об авидности аутоантител к антигенам ткани ЩЖ.

9.47. Sr²⁺-ЗАМЕЩЕННЫЙ ОКТАКАЛЬЦИЙФОСФАТ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ МАТЕРИАЛ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Султыгова А.Р.¹, Минайчев В.В.¹, Кобякова М.И.¹, Тетерина А.Ю.², Фадеева И.С.^{1,2}

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино

²Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН, Москва
sultygova2005@bk.ru

Цель. Исследование биосовместимости Sr²⁺-замещенного октакальцийфосфата (ОКФ) в зависимости от степени замещения ионов Ca²⁺ в условиях *in vitro*.

Гипотеза. Мы полагаем, что замещения ионов Ca²⁺ на ионы Sr²⁺ в ОКФ может способствовать повышению биологической совместимости и остеогенных свойств остеопластических материалов на основе ОКФ, полученного низкотемпературным синтезом. В настоящее время наиболее перспективным подходом в реконструктивной хирургии костной ткани является использование кальцийфосфатных (КФС) материалов, полученных в условиях, близких к физиологическим (35-37°C, 1 атм). При этом наиболее перспективным КФС считается ОКФ, который, несмотря на известный цитотоксический эффект, обладает сравнительно высокой скоростью резорбции на фоне подтвержденного остеоиндуктивного действия продуктов своей деградации. С целью сохранения (и повышения) остеоиндуктивных свойств ОКФ и снижения его цитотоксического действия в работе использован низкотемпературный катионзамещенный ОКФ с различным содержанием Sr: 0, 10, 20, 30 и 50%.

Описание работы.

1. Показано, что замещение Ca²⁺ на Sr²⁺ в составе ОКФ, синтезируемого низкотемпературным способом, не менее чем на 20% существенно снижает токсичность композита, а также значительно повышает выживаемость клеток СЗН/10Т1/2; установлена концентрация ОКФ с минимальным влиянием на жизнеспособность клеток (1 мг/мл).
2. Установлено, что митохондриальный мембранный потенциал ($\Delta\Psi_m$) у клеток СЗН/10Т1/2 снижается независимо от степени замещения Ca²⁺ на Sr²⁺ в ОКФ.
3. При определении количества кислых компартментов в клетках выявлено, что инкубация с нативным ОКФ в течении 96 часов достоверно увеличивала количество лизосом в клетках СЗН/10Т1/2, при этом инкубация клеток с ОКФ-Sr в течение этого же времени, не приводила к повышению данного показателя.
4. При оценке влияния материалов на продукцию АФК установлено, что совместная инкубация клеток с ОКФ, ОКФ-Sr(1%) и ОКФ-Sr(10%) в течение 96 часов не приводила к изменению данного показателя, однако продукция АФК достоверно и значимо снижалась при максимальном замещении стронция в ОКФ на 50%.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ (грант № 21-73-20251).

9.48. ВЛИЯНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ ПОКРЫТИЙ НАНОЧАСТИЦ НА ГЛУБИНУ ИХ ПРОНИКНОВЕНИЯ В СОЛИДНЫЕ ОПУХОЛИ МЫШЕЙ

Терёшина Е.Д., Колесникова О.А., Шипунова В.О.

Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопродный
tereshina.ed@phystech.edu

Разработка методов адресной доставки лекарственных препаратов на основе наночастиц является одним из наиболее бурно развивающихся направлений современной биомедицины. Для создания эффективных наноагентов - носителей препаратов требуется проведение большого числа тестов, включающих в себя *ex vivo* исследования накопления наночастиц в опухоли, например, с помощью гистологии или световой листовой флуоресцентной микроскопии.

Визуализация тканей и клеток с использованием гистологических методов является частью многих исследовательских проектов, а также имеет жизненно важное значение в клинической диагностике. Классический метод гистологического анализа для оценки морфологии ткани и наличия патологических процессов требует длительных процессов, включающих в себя обезвоживание ткани, проводку, и заливку парафином. Существует необходимость в проведении широкомасштабных скрининговых исследований, для чего метод криотомии оказывается более предпочтительным по сравнению со стандартной гистологией, так как не требует длительной пробоподготовки и сохраняет состояние ткани наиболее близкое к нативному.

В данной работе был разработан экспресс-метод тестирования проникновения магнитных наночастиц (МНЧ) в солидные опухоли мышей различного происхождения. Мышам Balb/c с различными модельными опухолями внутривенно инъецировали магнитные наночастицы различной природы, после чего образцы опухолей с МНЧ непосредственно после препарирования подвергались криотомии. Затем полученные криосрезы были окрашены комбинацией гематоксилина и эозина и раствора Перлса без дополнительной пробоподготовки или фиксации и визуализированы с использованием цветной камеры микроскопа. С помощью данной технологии удалось визуализировать накопление более чем 20 видов МНЧ в мышечных солидных опухолях и исследовать влияние полимерных покрытий МНЧ на глубину проникновения наночастиц в опухоль - так, в частности, было показано, на накопление МНЧ в опухоли влияют такие факторы, как заряд и размер полимера, а также его гидрофильность.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ № 22-73-10141.

9.49. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОК В БИОСЕНСОРАХ, ОСНОВАННЫХ НА ГКР-ЭФФЕКТЕ

Тихонова Д.С.¹, Кукушкин В.И.², Аралов А.В.³, Коршун В.А.³, Завьялова Е.Г.¹

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

²Институт физики твердого тела РАН, Черноголовка

³Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
daria.tikhonova@chemistry.msu.ru

Раман-активные метки находят широкое применение в сенсорах на основе Рамановской спектроскопии благодаря своим уникальным линиям колебательного спектра, а также способности давать интенсивный Рамановский сигнал при нано- и пикомолярных концентрациях на субстратах, обладающих ГКР-эффектом (ГКР-гигантское комбинационное рассеяние). Также SERS метки демонстрируют отличные перспективы в детекции раковых клеток, вирусов, белков и метаболитов.

Такие метки могут быть использованы в сочетании с аптамерами, синтетическими олигонуклеотидами, способными специфично и высокоаффинно связываться с мишенью. Используя способность метки преимущественно связываться с одной из конформаций аптамера, был разработан биосенсор на основе ГКР для определения аденозинмонофосфата (АМФ). К предварительно проинкубированным с наночастицами Ag тиомодифицированным аптамерам добавлялась аликвота АМФ, а затем метка ВНҚ-(амино)₂ (ВНҚ - black hole quencher) вступала во взаимодействие с комплексом "АМФ - аптамер". В работе были рассмотрены производные ВНҚ, было экспериментально показано, что рост интенсивности Рамановского сигнала пропорционален положительному заряду красителя. Это наблюдение может быть объяснено электростатическим взаимодействием с отрицательно заряженной наночастицей, при этом интенсивность ГКР-сигнала определяется приближением молекулы красителя к поверхности субстрата.

В продолжение этой работы ведется разработка двуслойных нанотагов, несущих внутри краситель и состоящих из ядра Ag, покрытого слоем SiO₂, модифицированного аптамером. Подобные нанотаги с использованием разных меток планируется внедрить в качестве нового подхода для мультисенсора. Также ведется работа по улучшению характеристик меток, а именно синтез нового SERS красителя, производного BODIPY FL, несущего положительный заряд на третичных аминогруппах. Предполагается, что данный краситель будет давать существенное усиление благодаря электростатическому взаимодействию с наночастицами и более эффективной сорбции, и может быть использован в разных типах сенсоров.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 18-74-10019, <https://rscf.ru/project/18-74-10019/>).

9.50. СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КАТИОННЫХ ПОРФИРИНОВ ДЛЯ аФДТ

Усанёв А.Ю.¹, Савельева И.О.¹, Шмиголь Т.А.², Жданова К.А.¹, Брагина Н.А.¹

¹МИРЭА - Российский технологический университет, Москва

²РНИМУ имени Н.И. Пирогова, Москва

alexey0usanev@gmail.com

В результате чрезмерного или неправильного использования антибиотиков всё больше патогенов вырабатывают множественную лекарственную резистентность. Антимикробная фотодинамическая терапия (аФДТ) появилась как альтернативный и многообещающий метод инактивации различных микроорганизмов. аФДТ основана на использовании нетоксичного хромофора - фотосенсибилизатора (ФС), который, при поглощении света, переводит молекулярный кислород в его активные формы (АФК), способные уничтожить патогены. Образующиеся АФК оказывают разрушительное действие на различные жизненно важные структурные биомолекулы бактерий, такие как белки, липиды и нуклеиновые кислоты. Мультитаргетный характер аФДТ сводит к минимуму риск развития резистентности.

Поэтому в качестве новых фотосенсибилизаторов для аФДТ в данной работе были получены производные катионных *мезо*-арилпорфиринов типов *транс*-А2В2 и А4, содержащие положительно заряженные азотосодержащие группы, и их комплексы с металлом (Zn(II)). Порфирины типа А4 получали методом монопиррольной конденсации по Линдсею, с последующими встраиванием металла в ядро макроцикла и модификацией терминальных групп. Соединения типа *транс*-А2В2 получали [2+2] конденсацией Макдональда с использованием дипирролилметана и соответствующего функционализированного бензальдегида. Выходы конечных соединений составили 30-35%.

Для катионных производных порфиринов были получены результаты биологических испытаний по исследованию фотоиндуцированной и темновой токсичностей в отношении *S. aureus* (Sa78). В результате наблюдалась 100% фотодинамическая инактивация бактерий в микромолярном диапазоне концентраций.

Работа поддержана грантом РФФ №20-73-00286.

9.51. ЭФФЕКТЫ ТКАНЕВОГО АКТИВАТОРА ПЛАЗМИНОГЕНА И ИОНОВ ЛИТИЯ НА ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ

Федулова К.С.¹, Бабенко В.А.², Плотников Е.Ю.²

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

²Институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ, Москва

Xenia.fedulova@yandex.ru

Ишемический инсульт - эпизод неврологической дисфункции, вызванный очаговым инфарктом в ЦНС. Он занимает вторую позицию по смертности и третью по инвалидности у взрослых людей. Несмотря на то, что тканевой активатор плазминогена (ТАП) является золотым стандартом лечения ишемического инсульта, его введение повышает уровни матриксных металлопротеиназ (ММП) и увеличивает риск геморрагической трансформации. На данный момент не существует клинически одобренных вспомогательных агентов при терапии ТАП. Одними из множества перспективных веществ являются ионы лития, оказывающие защитное действие и снижающие уровень ММП-9 при моделировании ишемического инсульта. Цель настоящего исследования - изучение действия ТАП и LiCl на процессы в эндотелиальных клетках.

Эксперименты выполнены на линии эндотелиальных клеток человека EA.hy926. Ишемический инсульт моделировали *in vitro* с помощью кислородно-глюкозной депривации (КГД). Выживаемость клеток оценивали с помощью МТТ-теста. Количество ММП в клеточных лизатах определяли с помощью иммуоблоттинга и зимографии. Энергетический метаболизм клеток анализировали путем измерения скорости внеклеточного закисления (мрН/мин) и скорости потребления кислорода (пМоль O₂/мин).

ТАП оказывает дозозависимый цитотоксический эффект в отношении эндотелиальных клеток как в нормальных условиях, так и после КГД. Также ТАП в концентрации 1,6 мкМ вызывает увеличение базального уровня гликолиза эндотелиоцитов и количества ММП-2 и ММП-9 в них. LiCl в концентрации 1 мМ не влияет на выживаемость клеток и не защищает их от цитотоксического действия ТАП. Однако, LiCl нивелирует вызванное ТАП увеличение активностей ММП-2 и ММП-9 при совместном с ним воздействии.

Полученные результаты позволяют предположить, что повышение уровня гликолиза может приводить к увеличению количества ММП-9 в эндотелиальных клетках, что ранее было показано для клеток эпителиальной карциномы. Снижение количества ММП в эндотелиоцитах, индуцированное LiCl, может способствовать увеличению целостности ГЭБ и снижению побочных эффектов ТАП при тромболитической терапии.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-54-56028.

9.52. ЭРИТРОЦИТАРНАЯ БЛОКАДА ФАГОЦИТОВ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ ФАРМАКОКИНЕТИКИ НАНОЧАСТИЦ

Чикалкин Н.С.^{1,2}, Миркасымов А.Б.², Деев С.М.^{1,2}

¹НИИЯУ "МИФИ", Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
neat13@mail.ru

Нанопрепараты благодаря своим уникальным физико-химическим характеристикам находят все новые применения в медицине для лечения и диагностики различных заболеваний. Однако, несмотря на демонстрацию высокой эффективности в *in vitro* моделях, трансляция в *in vivo* сталкивается с рядом проблем. Одна из ключевых причин, ограничивающих фармакологический эффект нанолечения, связана с распознаванием иммунной системой наноагентов и последующей быстрой элиминацией их из кровотока и поглощением профессиональными фагоцитами. Для решения этой проблемы мы разрабатываем метод обратимой блокады фагоцитов для продления циркуляции наночастиц в кровотоке и усиления их накопления в опухоли.

Старые эритроциты, утратившие гибкость своей мембраны, плохо проходят через узкие кровеносные капилляры и поглощаются фагоцитами печени и селезенки с последующей деградацией. Внутривенное введение искусственно состаренных красных клеток крови, меченых радионуклидами, является высоко биосовместимым методом, применяемым на человеке для визуализации этих органов [1]. Поэтому денатурированные посредством мягкой термической обработки эритроциты являются превосходным кандидатом на временную блокаду клеток Купфера в печени или макрофагов в селезенке.

В этой работе блокада эритроцитами позволила значительно продлить циркуляцию наноагентов в кровотоке и изменить их биораспределение в организме, уменьшив поглощение в печени. Данный биосовместимый метод может быть применен не только для повышения эффективности доставки наноагентов в терапевтическую цель, но и для уменьшения побочной токсичности по отношению к печени.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-90052.

Литература

1. Jolepalem P, Balon HR. Application of heat-damaged Tc-99m RBCs in a patient with suspected hepatic metastasis. Radiology case reports. 2013 Jan 1;8(1):787.

9.53. ИССЛЕДОВАНИЯ ОКСИГЕНАЦИИ КРОВИ СОСУДОВ И РЕДОКС-СОСТОЯНИЯ МИТОХОНДРИЙ АСТРОЦИТОВ НЕОКОРТЕКСА МЫШЕЙ *IN VIVO* ПРИ ПОМОЩИ МИКРОСПЕКТРОМЕТРИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ

Шестопалова М.С.^{1,2}, Тяглик А.Б.^{1,3}, Федотова А.А.^{1,3}, Морозова К.И.³, Залыгин А.В.^{1,2}, Браже Н.А.^{1,3}, Олейников В.А.^{1,2}, Семьянов А.В.^{1,3}

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²НИЯУ "МИФИ", Москва

³МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

shestopalova.milena@gmail.com

Спектроскопия комбинационного рассеяния (КР) является неразрушающим и чувствительным методом для исследования молекулярных колебательных мод. Данный метод нашёл широкое применение в биомедицинских исследованиях. Спектроскопия КР позволяет изучать изменения в конформации и функциях биомолекул внутри клеток *in vitro* и *in vivo*. Ранее спектроскопия КР широко использовалась для изучения изолированных гем-содержащих молекул (например, гемоглобин, миоглобин и цитохромы). Спектры КР чувствительны к степени оксигенации крови, что позволяет в режиме реального времени оценивать локальную оксигенацию крови в головном мозге.

Спектроскопия КР была использована для одновременного изучения свойств клеток головного мозга и степени оксигенации крови в сосудах коры головного мозга у наркотизированных мышей. Предварительно (за 2-3 месяца) мышам проводили операцию краниотомии с удалением части черепа над соматосенсорной корой с установкой прозрачного стеклянного окна, защищающего открытые ткани мозга и позволяющие проводить регистрацию спектров КР. Эксперименты проводились на конфокальном рамановском микроспектрометре InVia Qontor (Renishaw, Великобритания) на длине волны возбуждения 532 нм.

Спектры КР артериол и венул представляют собой пики, соответствующие колебаниям связей в молекулах гема гемоглобина. Положение пиков зависит от оксигенации гемоглобина и различается для окси- и дезоксигемоглобина. Регистрация спектров КР от концов-ножек астроцитов вблизи кровеносного сосуда позволяет одновременно оценить окислительно-восстановительное состояние митохондрий в астроците и оксигенацию крови в соседнем сосуде.

В данной работе был разработан методический подход на основе микроспектроскопии комбинационного рассеяния для одновременного исследования локальной оксигенации крови в сосудах и редокс-состояния дыхательной цепи митохондрий в астроцитах коры головного мозга анестезированных мышей. Показана высокая чувствительность метода к изменениям редокс-состояния митохондрий клеток и степени оксигенации крови в рядом расположенных сосудах.

9.54. РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ПРЕТАРГЕТИНГА ДЛЯ ТЕРАПИИ ЕрСАМ-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ

Шилова М.В., Прошкина Г.М., Шрамова Е.И., Деев С.М.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
mari_shilova29@mail.ru

В настоящее время идет активная разработка новых подходов к терапии онкологических заболеваний, которые бы обладали высокой специфичностью и сопровождалась минимальными побочными эффектами. Одной из наиболее перспективных стратегий является использование концепции претаргетинга, то есть разделения адресного и цитотоксического модулей и их доставки к мишени через определенный промежуток времени, что позволяет значительно повысить соотношение опухоль/фон и уменьшить нежелательное воздействие цитотоксинов на здоровые ткани.

В данной работе ранее разработанная нами система для претаргетинга на основе молекулярной пары барназа-барстар была адаптирована для нацеливания на поверхностный рецептор ЕрСАМ, гиперэкспрессия которого наблюдается в 15-46% случаев возникновения рака молочной железы человека. В качестве адресного модуля был взят ЕрСАМ-специфичный белок неиммуноглобулинового скаффолда DARPIn EC1. Методом проточной цитофлуориметрии была доказана способность гибридных белков EC1-барназы и EC1-барстара эффективно связываться с поверхностью ЕрСАМ-положительных опухолевых клеток, а методом кислотно-нерастворимого остатка и стандартного МТТ-теста на ЕрСАМ-положительных опухолевых клетках было подтверждено сохранение рибонуклеазной активности EC1-барназы. Также методом флуоресцентной конфокальной микроскопии была изучена скорость интернализации данных белков в ЕрСАМ-положительные опухолевые клетки BT-474. По результатам данного опыта в качестве адресного модуля был выбран EC1-барстар, который находится на поверхности опухолевых клеток BT-474 около 2.5 часов до начала интернализации.

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-14-00112.

9.55. ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ОНКОТЕРАНОСТИКИ

Шипунова В.О.^{1,2,3}

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

³Научно-технологический университет "Сириус", Сочи
viktoriya.shipunova@phystech.edu

Несмотря на значительное количество терапевтических соединений, смертность, вызванная онкологическими заболеваниями, является второй по численности после сердечно-сосудистых заболеваний. Использование наноструктур для транспорта лекарственных препаратов позволяет потенциально снизить системную токсичность и значительно повысить эффективность онкотерапии. Более того, наноструктуры представляют собой уникальную платформу для создания средств онкотерапии - диагностики заболеваний и терапии при необходимости.

Однако, вследствие наличия большого количества физиологических барьеров, только незначительная часть терапевтических наночастиц достигает опухоли. Данная проблема существенно ограничивает трансляцию в клиническую практику наноструктур, нагруженных лекарственными препаратами.

В данном докладе представлен цикл работ, посвященный разработке и тестированию методов, нацеленных на то, чтобы сделать наноструктуры самой различной природы настолько же эффективными *in vivo* - в организме, насколько они уже эффективно *in vitro* - на культуре клеток, в т.ч. на усиление эффективности уже существующих препаратов. В частности, описаны оригинальные методы синтеза металлических и полимерных структур, нагруженных противораковыми соединениями. Продемонстрирована противоопухолевая эффективность синтезированных соединений для терапии опухолей экспериментальных животных, в частности, при использовании методов фотодинамической и фототермической терапии.

Разработаны оригинальные методы, позволяющие значительно усилить эффективность противораковых наночастиц, в том числе, нацеленные на продление циркуляции наночастиц в кровотоке, на усиление проникновения наночастиц в крупные опухоли с плотными межклеточными контактами, а также на усиление адресной цитотоксичности наноструктур. Данные исследования имеют высокую социальную значимость как в фундаментальной науке, так и в переходе к персонализированной медицине посредством рационального дизайна наноструктур направленного действия для задач онкотерапии.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ № 22-73-10141.

9.56. ДИНАМИКА ИЗМЕНЧИВОСТИ НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНОВ SARS-CoV-2, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В КАЧЕСТВЕ МИШЕНЕЙ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ

Ширишков Ф.В.^{1,2}, Беснятых Ю.А.^{1,2}

¹ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России, Москва

²Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва

shirshikov@rcpcm.org

Международная коллекция полных геномов коронавируса SARS-CoV-2 каждый день пополняется новыми последовательностями. С появлением автоматических аналитических ресурсов на базе NCBI и GISAID, таких как COVID CG (<https://covidcg.org>), накопленная информация о геномах может помочь быстрее понять механизмы изменчивости вирусов и выработать рациональную стратегию борьбы с новыми эмерджентными инфекционными заболеваниями.

В период первой вспышки коронавируса SARS-CoV-1 в 2002 году и во время пандемии COVID-19 в качестве мишеней для диагностики были рекомендованы гены, кодирующие белки RdRp, E и N. Ген N находится на 3'-конце геномной РНК SARS-CoV-2 и после начала транскрипции становится наиболее высококопийной мишенью, присутствуя в каждой фракции субгеномной РНК. Такая мишень полезна для повышения чувствительности тест-систем, но с другой стороны высокая копияность целевого гена не позволяет проводить количественный анализ вирионов у конкретного пациента, что может быть актуально при оценке эффективности терапии или стадии заболевания. Целью настоящего исследования стал сравнительный анализ динамики изменчивости всех генов SARS-CoV-2, подходящих для количественной диагностики коронавируса методами амплификации нуклеиновых кислот.

Используя набор инструментов веб-сервиса COVID CG, были получены сведения о частоте и временной динамике наиболее распространенных нуклеотидных замен и делеций, возникавших в геноме SARS-CoV-2 относительно референсного генома в период с 15.12.2019 по 01.09.2022 (более 10 млн геномов). Анализировались гены неструктурных, вспомогательных и структурных белков. Показано, что не все нуклеотидные замены оказались стабильными и смогли закрепиться в геномах наиболее поздних изолятов, несмотря на долгую циркуляцию в популяции. В гене N были найдены случаи повторного возникновения исчезнувших нуклеотидных замен (G28881A, G28882A и G28883C), а также появление стабильной делеции (GAGAACGCA28362-). Все исследованные гены были ранжированы по степени изменчивости. Наиболее консервативной оказалась нуклеотидная последовательность гена nsp16, никогда ранее не рассматриваемая в качестве мишени для диагностики. Полученные результаты позволяют по новому взглянуть на роль изменчивости коронавируса при выборе способов его диагностики.

9.57. СТРУКТУРНЫЕ ИЗОМЕРЫ КОРИЧНЫХ ГИДРОКСАМОВЫХ КИСЛОТ БЛОКИРУЮТ РЕПЛИКАЦИЮ ВГС ПО РАЗНЫМ МЕХАНИЗМАМ

Щербакова А.С., Кондукторов К.А., Кочетков С.Н., Козлов М.В.

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва
nastyashcherbakova1@gmail.com

Большой интерес в качестве блокаторов репликации вируса гепатита С (ВГС), вызывают ингибиторы гистондеацетилаз (HDACs). Активность, как ядерных, так и цитоплазматических HDACs, подавляется в присутствии разнообразных ароматических гидроксамовых ингибиторов, включая производные коричных гидроксамовых кислот (СНА) [1]. В представленной работе мы синтезировали набор структурных *ortho*-, *meta*- and *para*-изомеров фенильных производных СНА различной длины. Используя клеточную тест-систему полноразмерного репликаона ВГС, нами была изучена корреляция между подавлением вирусной репликации и ингибированием HDACs класса I/IIb структурными изомерами СНА. Было установлено, что в случае *ortho*-СНА анти-ВГС активность коррелирует с ингибированием HDAC8, в то время как в случае *meta*-СНА она коррелирует с ингибированием HDAC1/2/3 и HDAC6. Антивирусная активность *para*-СНА была многократно сильнее по сравнению с *meta*-СНА при равной эффективности ингибирования HDAC1/2/3/6, что указывало на существование дополнительной клеточной мишени, которая не принадлежит изученной группе HDACs [2]. Полученные результаты впервые выявили индивидуальное значение активности HDAC8 для вирусной репликации.

Работа поддержана РФФИ № 20-04-00504.

Литература

1. Roche, J., Bertrand, P., Inside HDACs with more selective HDAC inhibitors. European Journal of Medicinal Chemistry 2016, 121, 451e483.
2. Kozlov, M.V., Konduktorov, K.A., Malikova, A.Z., Kamarova, K.A., Shcherbakova, A.S., Solyev, P.N., Kochetkov, S.N. Structural isomers of cinnamic hydroxamic acids block HCV replication via different mechanisms. European Journal of Medicinal Chemistry 2019, 183, 111723.

9.58. ПОИСК БИОМАРКЕРОВ ДЛЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ОСТРОГО РЕСПИРАТОРНОГО ДИСТРЕСС-СИНДРОМА ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ПРОТЕОМА БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОГО ЛАВАЖА

Юдина Н.С., Пугач В.А., Тюнин М.А.

Государственный научно-исследовательский испытательный институт
военной медицины Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-
Петербург
gniiivm_7@mil.ru

Известно, что острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) возникает как сопутствующее осложнение при COVID-19. Имеющиеся проблемы ранней диагностики ОРДС обусловлены как неспецифичностью предлагаемых биомаркеров, так и влиянием матричных эффектов исследуемых биологических проб, а, значит, и плохой воспроизводимостью результатов. Для повышения достоверности анализа перспективно использование результатов протеомных исследований в аспекте поиска наиболее информативных биомаркеров, характеризующих динамику патологического процесса. Нами проведено исследование по выявлению белковых биомаркеров на экспериментальной модели ОРДС для ранней диагностики и прогнозирования течения заболевания. В качестве анализата были выбраны пробы бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ), отобранные через 6 и 24 часа у кроликов-самцов после интратрахеального введения липополисахарида (ЛПС) (*E.coli* 055:B5) в дозе 4 мг/кг. На основании наблюдаемого течения синдрома (степень дыхательной недостаточности) были сформированы 2 группы животных: 1 - с отрицательной динамикой, 2 - с положительной динамикой. У животных группы 1 в пробах БАЛЖ было установлено значительное превышение уровня общего белка уже через 6 ч после введения ЛПС, в пробах группы 2 уровень общего белка увеличивался только через 24 ч. Протеомное исследование проб вводили посредством фракционирования, электрофоретического разделения белковых фракций в геле, и сравнительного хромато-масс-спектрометрического анализа гидролизата выделенных белковых фракций с использованием программного обеспечения PEAKS 8.5. Для всех проб, взятых через 6 ч, было характерно наличие плазминогена, повышение уровня С-реактивного белка, аннексинов А1, А5, снижение ангиотензиногена и утероглобина. Через 24 ч в пробах БАЛЖ среди известных биомаркеров были выделены металлопротеиназы MMP8, MMP9, и кальгранулины S100A8, S100A9. В пробах из группы 1, соответствующих неблагоприятному течению синдрома, было установлено наличие амилоидного-β-белка, аполипептинов Е, А1 (APOE, APOA1), кластерина (CLUS) и α-2-макроглобулина (α-2М), которые могут быть использованы как показатели отрицательной динамики заболевания. Оценка особенностей белкового состава БАЛЖ при ОРДС показала пригодность мониторинга аннексина А1 для ранней диагностики синдрома. Появление и нарастание в пробах БАЛЖ белка α-2М свидетельствует о прогрессировании воспалительной реакции в легких и о тяжелом течении синдрома.

9.59. ПОЛИМЕРНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ НАЦЕЛИВАНИЯ НА КЛЕТКИ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ В ОПУХОЛИ

Юрьева А.М., Шипунова В.О.

Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный
lureva.am@phystech.edu

Адресная доставка препаратов с помощью наночастиц является одним из перспективных подходов для лечения онкологических заболеваний. Тем не менее, активная нацеленная доставка препаратов к раковым клеткам опухоли с использованием существующих адресных наночастиц не является достаточно эффективной для введения в клиническую практику. Способ адресной доставки препаратов с помощью структур на основе наночастиц, модифицированных лигандами к рецепторам, экспрессируемым раковыми клетками опухоли, имеет существенные недостатки. Одним из таких недостатков является то, что наночастицы вводятся в кровотоки, откуда они не могут проникать через стенки сосудов к клеткам опухоли, на которые они нацелены. Цель данного исследования заключалась в создании наночастиц, нацеленных на клетки эндотелия сосудов в опухоли, для увеличения эффективности терапии онкологических заболеваний.

Для модификации наночастиц был выбран специфично связывающийся с клетками эндотелия сосудов в опухоли конканавалин А, эффективность которого описана в литературе. Для создания наноструктур для адресной доставки был разработан метод синтеза полимерных наночастиц размером до 250 нм, загруженных флуоресцентными метками, подходящих для возбуждения и испускания флуоресценции в окне прозрачности биоткани. Полученные наночастицы обладают такими важными для биомедицины свойствами, как: биосовместимость, легкость модификации поверхности и возможность инкапсулирования различных компонентов.

В данной работе были получены наночастицы на основе поли-лактидо-ко-гликолида, модифицированные конканавалином А для нацеливания на клетки эндотелия сосудов в опухоли. В данные наночастицы были включены углеродные квантовые точки для использования данных наночастиц в фототермической терапии опухоли. Было продемонстрировано эффективное связывание полученных наночастиц с клетками эндотелия сосудов опухоли на клеточной линии EA.hy926. Исследование биораспределения данных наночастиц показало эффективное накопление данных наночастиц в модели опухоли молочной железы мышей Balb/c, а также продемонстрирована возможность фототермической терапии с использованием данных гибридных полимерных наноструктур, что открывает новые возможности в диагностике и терапии солидных медленно развивающихся опухолей.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 22-73-10141.

9.60. ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО КОМПЛЕКСА БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОКАЛИНА С ХРОМОФОРОМ (DiV3)

Горячева Е.А., Артемьев И.В., Ручкин Д.А., Плетнева Н.В.,
Плетнев В.З.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, Москва
katework@mail.ru

Дизайн новых желто-оранжевых биомаркеров серии DiV осуществлен на основе нековалентных комплексов генно-инженерных вариантов бактериального липокалина *Blc* (в качестве флуороген-активирующего белка; ~20 кДа) с синтетическим GFP-подобным хромофором M739. Полученные комплексы демонстрируют яркую флуоресценцию и существенно более высокую фотостабильность, чем коммерческие биомаркеры mKate и EGFP и является первыми примерами дизайна новых флуоресцентных биомаркеров с использованием липокалина. Ранее, пространственная структура кристаллического флуоресцентного комплекса DiV1 была нами установлена на атомном уровне рентгеноструктурным методом (Muslinkina *et al.*, ACS Chem. Biol. 2020, 15, 2456-2465).

В настоящем сообщении представлены структурные данные относительно пространственной организации некристаллизующегося родственного флуоресцентного комплекса DiV3, полученной теоретическим расчетным методом молекулярной механики. По сравнению с экспериментальной кристаллической структурой DiV1 в расчетной структуре DiV3 установлен альтернативный минорный центр связывания хромофора M739, положение которого соответствует центру связывания в белке Сандерцианине. При этом, кардинальное различие фотофизических характеристик комплексов DiV1 и DiV3 неявным образом подтверждает существование в полости липокалина *Blc* обоих центров связывания хромофора M739.

Сокращения: GFP - green fluorescent protein.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-24-00011).

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

| | | | |
|---------------------------|---------------|------------------|--|
| Абакумова Т.О. | 189 | Бабич О.О. | 134, 142, 170 |
| Абдуллина М.И. | 144 | Бабкова Ю.С. | 132, 143 |
| Абрамчик Ю.А. | 14 | Багров Д.В. | 224 |
| Абрикосова В.А. | 169 | Баженов С.В. | 179 |
| Аверченков Д.М. | 101 | Баклагина С.П. | 61 |
| Агапова Ю.К. | 29 | Балакина Т.А. | 230 |
| Агарёва М.Ю. | 186 | Балалаева И.В. | 116, 123, 205 |
| Айрапетов М.И. | 99 | Баландин С.В. | 8, 17, 28 |
| Акасов Р.А. | 218 | Балышева К.Д. | 189 |
| Аксенов В.В. | 129 | Баранов М.С. | 6, 82 |
| Александрова Е.В. | 187 | Баранова А.С. | 199 |
| Александрова К.В. | 114 | Баранова М.Н. | 169 |
| Александрова С.С. | 148 | Басов Н.В. | 133 |
| Алексахина И.А. | 130 | Батищев О.В. | 10, 11, 62, 66 |
| Алексеева Л.Г. | 105 | Бахтиярова А.Х. | 134 |
| Алексеева Н.А. | 93 | Бачева А.В. | 12 |
| Алексеев И.В. | 175 | Безбородов Г.А. | 135 |
| Алиева А.Х. | 209 | Безбородова О.А. | 175 |
| Аллахвердиев С.И. | 157 | Белицкая Е.Д. | 136 |
| Аллахвердиев Э.С. | 229 | Белкина Е.Г. | 50 |
| Алтунина А.В. | 188 | Белов А.А. | 192, 214 |
| Андреев Я.А. | 56 | Белогуров А.А. | 32 |
| Андреева Ковалевская Ж.И. | 9 | Белоусов А.С. | 6 |
| Андрианова А.А. | 215 | Белоусов В.В. | 127, 189, 219 |
| Андрусенко Е.А. | 131 | Белоусов М.В. | 34 |
| Анисенко А.Н. | 121 | Беляев Е.С. | 45 |
| Анохова В.Д. | 5 | Беляев Я.Б. | 145 |
| Антина Л.А. | 72 | Берзина М.Я. | 152 |
| Антипова Н.В. | 194, 210, 217 | Берлов М.Н. | 97 |
| Антипова О.М. | 41, 44, 91 | Берсон Ю.М. | 94 |
| Антонец К.С. | 34 | Бершакский Я.В. | 7, 13 |
| Антошина Д.В. | 17 | Беспярых Ю.А. | 241 |
| Аралов А.В. | 45, 202, 234 | Биджиева С.Х. | 151 |
| Армеев Г.А. | 42, 53 | Бикаева И.О. | 158 |
| Арнаутова А.О. | 130, 159 | Бикмуллин А.Г. | 27 |
| Арсеньев А.С. | 7, 77 | Билан Д.С. | 80 |
| Артемова В.Д. | 95 | Блинова А.С. | 190 |
| Артемьев И.В. | 245 | Блохин Д.С. | 27 |
| Артыков А.А. | 160 | Блохина Я.В. | 62 |
| Астахов П.С. | 150 | Бобылёв А.Г. | 37 |
| Ахманов Е.А. | 54 | Бобылёва Л.Г. | 37 |
| Бабенко В.А. | 236 | Бовин Н.В. | 54, 58, 59, 102, 103, 136, 147, 152 |

| | | | |
|---------------------|-------------------|------------------|---------------|
| Богданов И.В. | 110, 173 | Ведехина Т.С. | 45 |
| Богомазова А.Н. | 45 | Ведунова М.В. | 108, 109 |
| Бойко К.М. | 16 | Веретененко И.И. | 55 |
| Болдырев И.А. | 65, 75 | Веселов М.М. | 193 |
| Болдырева М.А. | 186 | Ветрова О.С. | 9 |
| Болосов И.А. | 8, 24, 28 | Вехтева Е.Н. | 217 |
| Болховитина Е.Л. | 104 | Виноградова Л.В. | 86, 89 |
| Большаков А.П. | 101 | Вихлянцев И.М. | 37 |
| Борисов Е.Е. | 126 | Вихрева П.Н. | 211 |
| Боровлева П.И. | 137 | Вихров А.А. | 184 |
| Бортневская Ю.С. | 191 | Владимиров В.И. | 12 |
| Борщевский В.И. | 6 | Власов А.В. | 179 |
| Бочаров Э.В. | 7, 13 | Власов И.Н. | 201 |
| Бочарова О.В. | 7 | Волков Д.В. | 141 |
| Бочкова Ж.В. | 33 | Воловик М.В. | 10 |
| Брагина Н.А. | 191, 235 | Володина С.И. | 100 |
| Браже Н.А. | 33, 188, 212, 238 | Волох О.И. | 49 |
| Бровко Ф.А. | 9 | Волчо К.П. | 63 |
| Брылев Л.В. | 101 | Воробьев К.В. | 122 |
| Брюшкова А.А. | 113 | Воробьев И.И. | 165 |
| Бугрова А.Е. | 64 | Воронова С.С. | 142 |
| Бугрова Ю.С. | 116 | Воронцова Е.В. | 160 |
| Буздин А.А. | 226 | Воропаев А.Д. | 110 |
| Булаев А.Г. | 197 | Габдулхаков А.Г. | 15 |
| Буренина О.Ю. | 52 | Габиров А.Г. | 23 |
| Буркин К.М. | 138 | Гаврилок В.Н. | 129 |
| Бутьлин А.А. | 103 | Галкин А.П. | 115 |
| Бычкова А.А. | 139 | Гаспарян М.Э. | 160 |
| Бычкова А.В. | 144 | Гасса М. | 95 |
| Вавилов М.В. | 60 | Генералова А.Н. | 168, 218 |
| Вавилова Ю.Д. | 104 | Генин А.К. | 148 |
| Валина А.А. | 115 | Гетте М.С. | 179 |
| Ванюшенкова А.А. | 192, 214 | Гифер П.К. | 11 |
| Варижук А.М. | 45 | Гладких Д.А. | 193 |
| Варижук И.В. | 43, 69 | Глазунова Е.В. | 158 |
| Варфоломеева Л.А. | 16, 35 | Голованов А.Б. | 18, 129 |
| Василевский А.А. | 65 | Головнин А.К. | 46 |
| Васильев В.А. | 42 | Головченко В.В. | 54 |
| Васильева Е.В. | 77 | Гондаренко Е.А. | 194, 210, 217 |
| Васильева Л.А. | 45 | Гончарук С.А. | 77 |
| Васкан И.С. | 147 | Горбунов Н.П. | 94 |
| Ватлин А.А. | 96 | Горевич Г.И. | 195 |
| Вахницкая Е.С. | 140 | Горелик Л.В. | 143 |

| | | | |
|------------------|---|-------------------|----------|
| Горина Д.С. | 63 | Добрынина О.Е. | 123 |
| Городец М.Г. | 144 | Добрякова Н.В. | 148 |
| Городничев Р.Б. | 172 | Доколин Д.А. | 149 |
| Горохова А.А. | 116 | Долгих А.И. | 196 |
| Горшкова Т.А. | 54 | Долгих Д.А. | 33, 160 |
| Горячева Е.А. | 245 | Долгова А.С. | 206, 172 |
| Гостева Е.А. | 199 | Долотов О.В. | 207 |
| Гречихина М.А. | 105 | Долотова С.М. | 13 |
| Гривенников И.А. | 207 | Доминова И.Н. | 117 |
| Григель А.А. | 12 | Доронин И.И. | 161 |
| Григорьева Т.В. | 101 | Дренничев М.С. | 69 |
| Гринь Н.А. | 195 | Дроздова М.Г. | 193 |
| Гришина Е.В. | 96 | Дубенская Н.А. | 119 |
| Гроза Н.В. | 152 | Дубодел Е.С. | 67 |
| Грызунов Н.С. | 176 | Думина М.В. | 148 |
| Грязнова О.Ю. | 145, 171, 174 | Евдокимова Ю.С. | 150 |
| Гурская Н.Г. | 223 | Егоркин Н.А. | 22 |
| Гурьев Е.Л. | 123, 205 | Егорова Е.В. | 97 |
| Даниленко В.Н. | 96 | Елецкая Б.З. | 152 |
| Данилова А.А. | 146 | Елкина Д.А. | 52 |
| Данилова Ю.Д. | 111 | Емануйлова Ж.В. | 213 |
| Даничкина К.В. | 64 | Епифанова Л.А. | 36 |
| Дауди Д.И. | 195 | Ереско С.О. | 99 |
| Даушева А.Ф. | 43 | Ершов А.П. | 151 |
| Даянова Л.К. | 165 | Есипов Р.С. | 14 |
| Деев Р.В. | 125 | Ефимова В.Е. | 152 |
| Деев С.М. | 105, 132, 143, 145, 161, 166, 171, 174, 177, 178, 203, 205, 216, 237, 239 | Ефремов Р.Г. | 55 |
| Деев Я.А. | 65 | Жаворонкова О.Н. | 152 |
| Дементьева Е.В. | 158 | Жгун А.А. | 148 |
| Демин Д.Э. | 204 | Жданов Д.Д. | 148 |
| Демина А.В. | 227 | Жданова К.А. | 191, 235 |
| Демина П.А. | 218 | Жёлтиков А.М. | 219 |
| Дениева З.Г. | 66 | Жердев А.В. | 138 |
| Дергоусова Н.И. | 35 | Жеремян Э.А. | 98 |
| Дерябина Е.А. | 134 | Жукова Е.А. | 197 |
| Джаппи Д. | 219 | Журавлев А.М. | 18, 129 |
| Джомикова Д.Ш. | 9 | Жучков В.А. | 154 |
| Джус У.Ф. | 15 | Забельникова А.М. | 198 |
| Дзантиев Б.Б. | 138 | Завалко Ф.А. | 155 |
| Дидыч Д.А. | 175 | Завьялова Е.Г. | 234 |
| Димитриева В.А. | 147 | Загайнова А.В. | 158 |
| | | Загитова Р.И. | 156 |

| | | | |
|---------------------|----------------------------|------------------|---------------|
| Заднепровская Е.В. | 157 | Калиновский Д.В. | 161 |
| Зайцева Э.Р. | 69 | Камзеева П.Н. | 45, 202 |
| Зайцева Ю.В. | 139, 149 | Капитонова А.А. | 16 |
| Зальгин А.В. | 136, 147, 212, 238 | Капусткина Д.С. | 59 |
| Замятина А.В. | 9 | Каранов А.А. | 14 |
| Захарова М.А. | 89 | Каратовская А.П. | 9 |
| Заяц Е.А. | 14 | Каримуллина Л.Б. | 73 |
| Зверева М.Э. | 52 | Карлова М.Г. | 49 |
| Зверева С.Д. | 220 | Карпова Е.В. | 202 |
| Звягин А.В. | 178 | Карпова М.А. | 205 |
| Зелепукин И.В. | 132, 143, 145, 171, 177 | Карякин А.А. | 189 |
| Зенченко А.А. | 69 | Катруха В.А. | 74 |
| Зерний Е.Ю. | 6 | Качаев З.М. | 95 |
| Злобовская О.А. | 158 | Каюшин А.Л. | 130, 159 |
| Зозуля А.С. | 5 | Квичанский А.А. | 101 |
| Зорина Е.А. | 159 | Кибардин А.В. | 211 |
| Зубарев И.В. | 124 | Кильдеева Н.Р. | 193 |
| Зубарева О.Е. | 227 | Кислова С.О. | 75 |
| Зыкова Д.Д. | 70 | Класс А.Л. | 201 |
| Зюркалова Д.В. | 15 | Клочков В.В. | 27 |
| Иванов А.В. | 138 | Клюкина А.А. | 183 |
| Иванов Б.М. | 44 | Клячко Н.Л. | 193 |
| Иванов Д.С. | 70 | Князев Н.А. | 221 |
| Иванов И.В. | 18, 129 | Князева А.С. | 53 |
| Иванов И.Н. | 177 | Кобякова М.И. | 232 |
| Иванова О.В. | 45 | Ковалева М.И. | 190 |
| Ивлева А.И. | 101 | Коваленко А.А. | 227 |
| Игнатова П.Д. | 99 | Коваленко В.Л. | 162, 203 |
| Илясов А.Р. | 199 | Коваленко Е.И. | 93 |
| Индейкина М.И. | 64 | Ковальчук М.О. | 101 |
| Исаева А.С. | 100 | Козлов М.В. | 242 |
| Исакова А.А. | 160 | Козлов Н.В. | 163 |
| Исакова-Сивак И.Н. | 182 | Козлов С.А. | 67 |
| Кабашин А.В. | 166 | Козлова Т.Н. | 164 |
| Кавиладзе М.Г. | 217 | Козловская Л.И. | 202 |
| Каданова А.А. | 131 | Колачева А.А. | 209 |
| Казиков М.С. | 126 | Колесник В.В. | 100 |
| Казначеева Е.В. | 92 | Колесников Д.О. | 92 |
| Кайдошко С.С. | 200 | Колесникова О.А. | 162, 203, 233 |
| Какуев Д.Л. | 208 | Колесов Д.Э. | 165 |
| Калинкина В.А. | 72 | Коломыцев Р.Е. | 117 |
| Калиновский А.П. | 56 | Колпакова Е.С. | 202 |
| | | Комарова В.А. | 136 |
| | | Комарова К.Ю. | 86, 89 |

| | | | |
|--------------------|---------------|------------------|----------|
| Комедчикова Е.Н. | 162, 203 | Кузин А.А. | 64 |
| Комкова М.А. | 189 | Кузнецова М.К. | 107 |
| Кондратьева С.А. | 175 | Кузьменков А.И. | 65 |
| Кондукторов К.А. | 242 | Кузьмина Ю.Е. | 19 |
| Коновалова Е.В. | 205 | Кузьмич А.И. | 175 |
| Кононихин А.С. | 64 | Кузяева В.И. | 168 |
| Кононова Д.В. | 17 | Куклин И.А. | 179 |
| Кононова П.А. | 76 | Куклянова В.В. | 206 |
| Конотопов В.О. | 18 | Кукушкин В.И. | 234 |
| Константинова А.Н. | 70 | Кулакова А.М. | 25 |
| Константинова И.Д. | 159 | Кули Р. | 16 |
| Копнова Т.Ю. | 185 | Куликов А.М. | 50 |
| Копылов А.М. | 41, 44, 91 | Куликова Ю.В. | 170 |
| Корнеев К.В. | 98 | Купраш Д.В. | 98 |
| Королькова Ю.В. | 56 | Куранова М.Л. | 122 |
| Короткин М.Д. | 19 | Курбанова Л.А. | 160 |
| Коротков Е.В. | 167 | Курко О.Д. | 207 |
| Короткова Н.А. | 166 | Курочкина Л.П. | 15 |
| Коршун В.А. | 234 | Кухарский М.С. | 225 |
| Кост В.Ю. | 36, 112 | Лабис В.В. | 204 |
| Костенко В.В. | 204 | Лаврентьева М.В. | 102 |
| Костенко Д.О. | 167 | Лагарькова М.А. | 45 |
| Костюченко М.В. | 46 | Лазебный О.Е. | 50 |
| Кот Э.Ф. | 77 | Ланин А.А. | 219 |
| Котельникова П.А. | 166, 178, 203 | Ларин С.С. | 211 |
| Котова И.Б. | 183 | Ларина В.В. | 134, 142 |
| Кофанов Е.Р. | 190 | Ластовка А.В. | 63 |
| Кочетков Н.И. | 96 | Леваков С.А. | 217 |
| Кочетков С.Н. | 242 | Лизунова С.А. | 45 |
| Кошелев А.В. | 218 | Липатников А.Д. | 103, 152 |
| Крапивина А.А. | 157 | Липенский В.М. | 57 |
| Красавин М.Ю. | 5 | Литвинова А.В. | 119 |
| Красноперова Е.Ю. | 163 | Лобанова А.А. | 78 |
| Кренив И.А. | 97 | Логвинов А.С. | 21 |
| Кривицкая А.В. | 20, 73 | Ломакин Я.А. | 169 |
| Крыжановский С.А. | 120 | Лосева Т.В. | 208 |
| Крылов И.В. | 218 | Лукашевич М.В. | 209 |
| Крылова Л.В. | 205 | Лукин А.Ю. | 86, 89 |
| Крысько Д.В. | 108, 109 | Лукьянов Д.К. | 113 |
| Крючкова А.К. | 124 | Лунегова Д.А. | 22 |
| Кубарева Е.А. | 52 | Лутова Л.А. | 163 |
| Кудрявцев Д.С. | 194, 210 | Лысенко А.В. | 201 |
| Кудряева А.А. | 12, 32 | Ляхович М.С. | 215 |
| Кудряшова Е.В. | 148, 185 | | |

| | | | |
|-------------------|-------------------|--------------------|----------|
| Мазур Д.В. | 194, 210, 217 | Мишин А.В. | 6 |
| Майоров В.А. | 90 | Мишин А.С. | 6 |
| Майорова В.Е. | 211 | Моисеенко А.В. | 49 |
| Макаревич П.И. | 186 | Моисеенко В.Л. | 91 |
| Макаренко В.Ю. | 212 | Мокрушина Ю.А. | 23, 169 |
| Максимов Г.В. | 33, 229 | Моллаев М.Д. | 211 |
| Максимов Е.Г. | 22 | Молодина В.В. | 46 |
| Малабуйок Д.М. | 169 | Молочков Н.В. | 26 |
| Малоголовкин А.С. | 100 | Монахова М.В. | 40 |
| Мальцев Д.И. | 219 | Морозова С.А. | 218 |
| Мамаева А.А. | 208 | Морозова К.И. | 188, 238 |
| Мамедов И.З. | 101 | Мотов В.В. | 75 |
| Манухов И.В. | 179 | Мотякин М.В. | 144 |
| Марквичева Е.А. | 160, 193 | Мощенко А.А. | 219 |
| Мартынов В.И. | 208 | Мулашкина Т.И. | 25 |
| Мартынюк Т.В. | 229 | Муравьева Н.А. | 170 |
| Марченко Д.С. | 213 | Мурзина Е.Д. | 150 |
| Маслакова А.А. | 224 | Мурова Е.Д. | 104 |
| Маслов И.В. | 6 | Мусаева А.А. | 26 |
| Маслов М.А. | 57 | Мустафин Д.А. | 79 |
| Масчан М.А. | 141, 211 | Мухаметшина Л.Ф. | 219 |
| Матвеевская Н.С. | 111 | Мяснянко И.Н. | 82 |
| Матиев О.В. | 214 | Нагель А.С. | 9 |
| Матюхин А.А. | 120 | Надеждин К.Д. | 7 |
| Матюшенко А.М. | 21 | Назина Т.Н. | 151 |
| Махин А.П. | 215 | Невинский Г.А. | 106 |
| Махонина А.А. | 193 | Нежданова А.В. | 181 |
| Мельникова Д.Н. | 173 | Некрасов П.В. | 37 |
| Мельникова Л.С. | 46 | Немухин А.В. | 25 |
| Меньшиков М.Ю. | 186 | Нефедова А.А. | 121 |
| Мешков И.О. | 158 | Нефедова В.В. | 21 |
| Микенькина М.А. | 222 | Нешев Н.И. | 119 |
| Микulinская Г.В. | 26 | Нижников А.А. | 34 |
| Микшина П.В. | 54 | Никитин М.П. | 203 |
| Минайчев В.В. | 232 | Никитина Е.В. | 187 |
| Мингалёва Н.С. | 230 | Никулин А.Д. | 15 |
| Минеев К.С. | 7, 13, 65, 75, 77 | Новичихин Д.О. | 155 |
| Мирзоева Н.З. | 23 | Новосёлов А.Л. | 32 |
| Миркасымов А.Б. | 216, 237 | Ноздрачева А.В. | 122 |
| Миронов П.А. | 24 | Нокель А.Ю. | 54, 102 |
| Мирошкина И.А. | 120 | Номеровская М.А. | 92 |
| Михайлова А.Г. | 29 | Норец К.Д. | 171 |
| Мичурина С.С. | 128, 186 | Носов Г.А. | 127 |
| Мишанова А.В. | 217 | | |

| | | | |
|-------------------|---|---------------------|-------------|
| Обозина А.С. | 220 | Плащинская Д.Д. | 13 |
| Образцова Е.А. | 59 | Плескач Н.М. | 122 |
| Обухова П.С. | 103 | Плетнев В.З. | 245 |
| Овсяникова О.В. | 105 | Плетнева Н.В. | 245 |
| Овчинников Р.К. | 225 | Плешкан В.В. | 175 |
| Овчинникова Л.А. | 169 | Плотников Е.Ю. | 236 |
| Овчинникова Т.В. | 8, 17, 24, 28, 38, 39, 110, 111, 173 | Погонялова М.Ю. | 222 |
| Окольников Ф.Б. | 135 | Подгорный О.В. | 219 |
| Олейников В.А. | 136, 147, 188, 212, 238 | Поддубко С.В. | 197 |
| Олейников П.Д. | 47 | Подмосковников Г.С. | 223 |
| Онвумере М.К. | 106 | Подтуркина А.В. | 63 |
| Орлов А.В. | 155 | Позолотин В.А. | 97 |
| Орлова Н.А. | 165 | Покровская М.В. | 148 |
| Осетрина Д.А. | 27 | Покровский А.Г. | 133 |
| Осипова З.М. | 156, 215 | Полетаева Д.А. | 81 |
| Ословский В.Е. | 69 | Поляков Н.Э. | 76, 85 |
| Оснач.В.А. | 172 | Полякова С.М. | 54 |
| Охрименко И.С. | 13 | Попов А.В. | 188 |
| Павлова А.В. | 63 | Попов В.О. | 35 |
| Павлова Е.Р. | 224 | Попов Д.Ю. | 126, 222 |
| Павлюков М.С. | 210 | Порозова Н.О. | 100 |
| Павлюченкова А.Н. | 107 | Поспелов А.Д. | 123 |
| Паламарчук А.И. | 93 | Потапов А.Е. | 173 |
| Паликов В.А. | 12 | Похоруков Д.А. | 174 |
| Панова Т.В. | 183 | Поценковская Э.А. | 163 |
| Пантелеев П.В. | 8, 24, 28 | Прохоров Д.А. | 26 |
| Парамонов А.С. | 24 | Проценко А.Р. | 105 |
| Парунова Ю.М. | 140 | Прошкина Г.М. | 239 |
| Парфёнова Е.В. | 128, 186 | Прусаков К.А. | 224 |
| Патова О.А. | 54 | Психа Б.Л. | 119 |
| Патрушев Ю.В. | 133 | Пугач В.А. | 243 |
| Пахомов А.А. | 208 | Пукаева Н.Е. | 225 |
| Пермяков С.Е. | 6 | Рабушко Е.Н. | 226 |
| Пескова Н.Н. | 116 | Радько А.И. | 98 |
| Петренко Д.Е. | 29 | Ракитина О.А. | 175 |
| Петрова В.В. | 30 | Ракитина Т.В. | 13, 29 |
| Петрова Т.Е. | 15 | Рапорт Е.М. | 58, 59, 136 |
| Петушков В.Н. | 60 | Рапога Д.Д. | 80 |
| Пех Д.С. | 58 | Редькин Т.С. | 108, 109 |
| Печковская С.А. | 221 | Резникова О.В. | 24 |
| Пипия С.О. | 23 | Рижиков Ю.Л. | 179 |
| | | Рогачев А.Д. | 63, 133 |
| | | Рогинская А.И. | 227 |

| | | | |
|-------------------|----------|-------------------|----------|
| Рогов А.Г. | 79 | Симонова В.Ю. | 163 |
| Родионова Н.С. | 60 | Синегубова М.В. | 165 |
| Родненков О.В. | 229 | Синетова М.А. | 156, 157 |
| Розов А.В. | 219 | Синицына А.П. | 177 |
| Рудель А.Е. | 31 | Синявин А.Э. | 112 |
| Руденко Л.Г. | 182 | Сиунов А.В. | 9 |
| Руденко Н.В. | 9 | Скворцов Д.С. | 45 |
| Руденок М.М. | 209 | Скрипка М.И. | 36 |
| Рукина А.М. | 48 | Скuredина А.А. | 185 |
| Ручкин Д.А. | 245 | Слатинская О.В. | 229 |
| Рыбчинская Э.Е. | 228 | Слепцова Е.Е. | 108, 109 |
| Рыжов И.М. | 58 | Сливка Е.В. | 59 |
| Савельев А.Г. | 168 | Сломинский П.А. | 201, 209 |
| Савельева И.О. | 235 | Слонимский Ю.Б. | 22 |
| Савицкая В.Ю. | 119 | Случанко Н.Н. | 16, 22 |
| Савушкин М.А. | 81 | Смирнов А.Ю. | 69, 70 |
| Савченко М.С. | 58 | Смирнов И.В. | 23, 169 |
| Савюк М.О. | 108, 109 | Смирнов К.В. | 34 |
| Сажнев Н.А. | 193 | Смирнова О.В. | 230 |
| Салагаев Г.И. | 201 | Смирнова О.М. | 33 |
| Самарская В.О. | 176 | Смолина А.В. | 198 |
| Санина Н.А. | 81, 198 | Снигирева Е.Д. | 230 |
| Санкова А.В. | 137 | Согомонян А.С. | 178, 203 |
| Сапожников А.М. | 104, 105 | Соколов А.И. | 82 |
| Саратов Г.А. | 32 | Соколов В.С. | 70 |
| Сасс А.В. | 175 | Соколов Р.А. | 219 |
| Сафенкова И.В. | 138 | Соколова В.В. | 231 |
| Сафонов М.В. | 117 | Соколова Е.М. | 119 |
| Сафронова В.Н. | 24, 28 | Соколова О.С. | 49 |
| Себякин Ю.Л. | 19 | Солдатова Ю.В. | 81 |
| Седых С.Е. | 106 | Соловьев Я.В. | 30 |
| Селютина О.Ю. | 76, 85 | Соловьева А.Ю. | 35 |
| Семенова Е.И. | 209 | Соломеникова Ю.Н. | 51 |
| Семенова Е.М. | 151 | Солонин А.С. | 9 |
| Семенова М.А. | 33 | Солотёнков М.А. | 219 |
| Семьянов А.В. | 188, 238 | Солос Г.М. | 219 |
| Сенковенко А.М. | 82 | Сорокин М.И. | 226 |
| Сенча Л.М. | 123 | Сорокина У.Е. | 84 |
| Сервули Е.А. | 104 | Сотникова Ю.С. | 133 |
| Серебровская Е.О. | 113 | Сочилина А.В. | 168 |
| Сивкина А.Л. | 47, 49 | Спеченкова Н.А. | 176 |
| Сивопляс Е.А. | 50 | Стафеев Ю.С. | 128, 186 |
| Сидорова А.Е. | 224 | Степаненко В.Н. | 129 |
| | | Степанов А.В. | 141 |

| | | | |
|----------------------|--------------|------------------------|------------------|
| Степанов Н.Г. | 95, 125 | Устюгова А.С. | 98 |
| Степанова Е.А. | 182 | Ф адеева И.С. | 232 |
| Стрельникова П.А. | 64 | Файнгольд И.И. | 81, 198 |
| Стрельцова М.А. | 93 | Фатеева С.И. | 39, 110 |
| Студитский В.М. | 47, 49 | Федотов А.Б. | 219 |
| Суворова И.И. | 114 | Федотов И.В. | 219 |
| Сударев В.В. | 179 | Федотова А.А. | 238 |
| Султыгова А.Р. | 232 | Федулова К.С. | 236 |
| Сунцова М.В. | 226 | Феофанов А.В. | 47 |
| Сухих С.А. | 142 | Филатенкова Т.А. | 31 |
| Сухов Д.А. | 36 | Филатова Е.В. | 201 |
| Тагунов П.А. | 196 | Филатова Н.А. | 221 |
| Тактарова Ю.В. | 183 | Финкина Е.И. | 38, 39, 110, 111 |
| Таран Ю.А. | 180 | Фирстова А.А. | 190 |
| Творогова В.Е. | 163 | Фролова А.Ю. | 208 |
| Терехов С.С. | 23, 169 | Х айдуков Е.В. | 168, 218 |
| Терёшина Е.Д. | 203, 233 | Хайдукова М.М. | 97 |
| Тетерина А.Ю. | 232 | Хартманн Р.К. | 52 |
| Тимофеев В.И. | 29 | Холоденко И.В. | 161 |
| Тимофеев Э.Н. | 43 | Холоденко Р.В. | 161 |
| Тимофеева А.М. | 106 | Холошенко И.В. | 112, 217 |
| Тимченко М.А. | 37 | Хорн П.А. | 6 |
| Тин П.А. | 124 | Хохлова А.Н. | 60 |
| Тихонова Д.С. | 234 | Хренова М.Г. | 20, 25, 73 |
| Тихонова П.Е. | 181 | Хрулев А.А. | 45 |
| Тихонова Т.В. | 35 | Ц аплина О.А. | 94 |
| Токарев А.Т. | 125 | Царькова А.С. | 60 |
| Толмачева А.С. | 106 | Цветков В.Б. | 45 |
| Томилина М.А. | 124 | Цетлин В.И. | 194, 217 |
| Топникова М.Н. | 207 | Цорин И.Б. | 120 |
| Трефилов В.С. | 52 | Ч ебаненко В.В. | 86 |
| Трофимов Ю.А. | 55 | Челомбитько М.А. | 107 |
| Тугаева К.В. | 16 | Черкасова Е.И. | 123 |
| Тузиков А.Б. | 58, 136, 147 | Чернышов С.В. | 26 |
| Турубанова В.Д. | 108, 109 | Черткова Р.В. | 33 |
| Тюнин М.А. | 243 | Чикалкин Н.С. | 237 |
| Тяглик А.Б. | 238 | Чистов А.А. | 45 |
| У грюмов М.В. | 209 | Чистякова А.К. | 182 |
| Уколова П.А. | 222 | Чмыхало В.К. | 125 |
| Украинская В.М. | 141 | Чудаков Д.М. | 113 |
| Ульянова М.А. | 85 | Чудинов М.В. | 89 |
| Урюпина Т.А. | 37 | Чумаков А.А. | 137 |
| Усанёв А.Ю. | 235 | | |

| | | | |
|-----------------------|--|----------------------|----------|
| Чумаков С.П. | 154 | Юльметов А.Р. | 27 |
| Чупахин Е.Г. | 5 | Юнусова В.А. | 65 |
| Шабалина А.В. | 172, 206 | Юровская Д.О. | 14 |
| Шабалкина А.В. | 77 | Юрьева А.М. | 244 |
| Шадрина М.И. | 201, 209 | Ягодкина Е.М. | 200 |
| Шайтан А.К. | 47 | Яголович А.В. | 160 |
| Шальгин А.В. | 92 | Якупова Л.Р. | 185 |
| Шарьяфетдинова А.С. | 53 | Якушкина Ю.В. | 40 |
| Шахпаронов М.И. | 194, 210 | Ямпольский И.В. | 156, 215 |
| Шевченко М.А. | 104 | Яфарова А.А. | 158 |
| Шевченко О.В. | 39 | | |
| Шелухина И.В. | 36, 112 | | |
| Шенкарев З.О. | 24 | | |
| Шепелев М.В. | 48 | | |
| Шестопалова М.С. | 238 | | |
| Шидловский Ю.В. | 95, 125 | | |
| Шилова М.В. | 239 | | |
| Шилова Н.В. | 54, 59, 102, 103, 152 | | |
| Шилова О.Н. | 178 | | |
| Шипулин Г.А. | 158 | | |
| Шипунова В.О. | 155, 162, 177, 178, 203, 220, 233, 240, 244 | | |
| Ширинкина Л.И. | 183 | | |
| Ширшиков Ф.В. | 241 | | |
| Ширяев Н.А. | 191 | | |
| Шитиков Е.А. | 172 | | |
| Шитикова Е.Ю. | 126 | | |
| Шишпарёнок А.Н. | 148 | | |
| Шмакова А.Э. | 184 | | |
| Шмиголь Т.А. | 235 | | |
| Шошина Н.С. | 129 | | |
| Шрам С.И. | 120, 213 | | |
| Шрамова Е.И. | 239 | | |
| Шувалова М.Л. | 127 | | |
| Шульга А.А. | 105, 205 | | |
| Шустова Е.Ю. | 202 | | |
| Щербакова А.С. | 242 | | |
| Щока Е.В. | 113 | | |
| Юдаева А.Д. | 128 | | |
| Юдина Н.С. | 243 | | |
| Юдина Н.Ю. | 164 | | |

СОДЕРЖАНИЕ

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

СЕКЦИЯ 1

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ПЕПТИДОВ И БЕЛКОВ. БИОКАТАЛИЗ

- 1.1. СПИН-МЕЧЕННЫЕ АКЦЕПТОРЫ МИХАЭЛЯ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ КОВАЛЕНТНОГО ИНГИБИРОВАНИЯ ТИОРЕДОКСИНАРЕДУКТАЗЫ
Анохова В.Д., Чупахин Е.Г., Зозуля А.С., Красавин М.Ю. 5
- 1.2. ОТСЛЕЖИВАНИЕ КОНФОРМАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ БЕЛКОВ С ПОМОЩЬЮ КРАСИТЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ ХРОМОФОРА GFP
Белюсов А.С., Маслов И.В., Хорн П.А., Мишин А.С., Баранов М.С., Мишин А.В., Зерный Е.Ю., Пермьяков С.Е., Борщевский В.И. 6
- 1.3. ЯМР-ИССЛЕДОВАНИЯ ДИМЕРИЗАЦИИ ТРАНСМЕМБРАННЫХ ДОМЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ ИНСУЛИНА
Бершацкий Я.В., Бочарова О.В., Надеждин К.Д., Арсеньев А.С., Минеев К.С., Бочаров Э.В. 7
- 1.4. АНАЛОГИ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ СЕМЕЙСТВА ПРОТЕГРИНОВ С ПОВЫШЕННОЙ СЕЛЕКТИВНОСТЬЮ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ
Болосов И.А., Пантелеев П.В., Овчинникова Т.В., Баландин С.В. 8
- 1.5. МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ УЧАСТКОВ С-ТЕРМИНАЛЬНОГО ДОМЕНА NLU11 *V. cereus*
Ветрова О.С., Джомикова Д.Ш., Замятина А.В., Каратовская А.П., Руденко Н.В., Бровко Ф.А., Нагель А.С., Андреева-Ковалевская Ж.И., Сиунов А.В., Солонин А.С. 9
- 1.6. ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ИОННЫХ КАНАЛОВ, ИНДУЦИРОВАННЫХ ТРАНСМЕМБРАННЫМ БЕЛКОМ E ВИРУСА SARS-CoV-2
Воловик М.В., Батищев О.В. 10
- 1.7. ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ОБОЛОЧЕЧНОГО БЕЛКА E ВИРУСА SARS-CoV-2 МЕТОДОМ АСМ
Гифер П.К., Батищев О.В. 11
- 1.8. ИЗУЧЕНИЕ СУБСТРАТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ И ВОЗМОЖНОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ФЕРМЕНТА ИЗ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КАМЧАТСКОГО КРАБА
Григель А.А., Кудряева А.А., Бачева А.В., Паликов В.А., Владимиров В.И. 12
- 1.9. ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТНЫХ ФОРМ ТРАНСМЕМБРАННОГО ДОМЕНА РЕЦЕПТОРА КОНЕЧНЫХ ПРОДУКТОВ ГЛИКИРОВАНИЯ RAGE
Долотова С.М., Бершацкий Я.В., Плацинская Д.Д., Ракитина Т.В., Охрименко И.С., Минеев К.С., Бочаров Э.В. 13

- 1.10. РАЦИОНАЛЬНЫЙ ДИЗАЙН В АКТИВНОМ ЦЕНТРЕ РИБОКИНАЗЫ ИЗ *E.coli* ПОЗВОЛИЛ УВЕЛИЧИТЬ УДЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТА В ОТНОШЕНИИ D-АРАБИНОЗЫ НА ПОРЯДОК
Зяяц Е.А., Юровская Д.О., Каранов А.А., Абрамчик Ю.А., Есипов Р.С. 14
- 1.11. КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ШАПЕРОНИНА БАКТЕРИОФАГА ОВР *Pseudomonas fluorescens*
Зюркалова Д.В., Джус У.Ф., Курочкина Л.П., Никулин А.Д., Габдулхаков А.Г., Петрова Т.Е. 15
- 1.12. ИССЛЕДОВАНИЕ РЕГУЛЯЦИИ СВОЙСТВ БЕЛКА НУКЛЕОФОСМИНА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ
Капитонова А.А., Тугаева К.В., Варфоломеева Л.А., Бойко К.М., Кули Р., Случанко Н.Н. 16
- 1.13. ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ АНАЛОГОВ БАКТЕРИОЦИНА РLV-196 И ЕГО ГИБРИДОВ С АВИЦИНОМ А
Кононова Д.В., Антошина Д.В., Овчинникова Т.В., Баландин С.В. ... 17
- 1.14. РАЗРАБОТКА ФОТОАФФИННЫХ ЗОНДОВ НА ОСНОВЕ ИНДАЗОЛА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЗМА АЛЛОСТЕРИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ALOX15
Конотопов В.О., Журавлев А.М., Голованов А.Б., Иванов И.В. 18
- 1.15. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ АМФИФИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ НА ОСНОВЕ ДИЭТАНОЛАМИНА С СИММЕТРИЧНЫМИ И АСИММЕТРИЧНЫМИ РАДИКАЛАМИ В ГИДРОФОБНОМ ФРАГМЕНТЕ
Короткин М.Д., Кузьмина Ю.Е., Себякин Ю.Л. 19
- 1.16. МЕХАНИЗМ ИНГИБИРОВАНИЯ ПЕНИЦИЛИН-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА 2 ИЗ ШТАММОВ FA19, 35/02 И H041 *Nisseria gonorrhoeae* ЦЕФТРИАКСОНОМ
Кривицкая А.В., Хренова М.Г. 20
- 1.17. ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ИЗОФОРМ ТРОПОМИОЗИНА, УЧАСТВУЮЩИХ В ОНКОТРАНСФОРМАЦИИ
Логвинов А.С., Нефедова В.В., Матюшенко А.М. 21
- 1.18. МИНИАТЮРИЗАЦИЯ АСТАКСАНТИН-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА (AstaP) ИЗ ЭУКАРИОТИЧЕСКОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ
Лунегова Д.А., Слонимский Ю.Б., Егоркин Н.А., Максимов Е.Г., Случанко Н.Н. 22
- 1.19. РЕКОНСТРУКЦИЯ РЕАКЦИИ МОДИФИКАЦИИ ЛАНТИПЕПТИДОВ ФЕРМЕНТОМ ЛАНТИОНИН-СИНТЕТАЗОЙ III КЛАССА AncKC
Мирзоева Н.З., Пипия С.О., Мокрушина Ю.А., Габибов А.Г., Смирнов И.В., Терехов С.С. 23
- 1.20. СТРУКТУРНЫЕ И ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДИМЕРИЗАЦИИ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА КАПИТЕЛЛАЦИНА В МЕМБРАНОПОДОБНОЙ СРЕДЕ
Мионов П.А., Парамонов А.С., Резникова О.В., Сафронова В.Н., Пантелеев П.В., Болосов И.А., Овчинникова Т.В., Шенкарев З.О. ... 24

| | | |
|-------|--|----|
| 1.21. | ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИПА МЕХАНИЗМА ФЕРМЕНТАТИВНОГО РАЗРЫВА Р-О СВЯЗИ В НУКЛЕОЗИДФОСФАТАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭЛЕКТРОННО-ПЛОТНОСТНЫХ КРИТЕРИЕВ <i>Мулашкина Т.И., Кулакова А.М., Хренова М.Г., Немухин А.В.</i> 25 | 25 |
| 1.22. | НОВАЯ КАЛЬЦИЙ-ЗАВИСИМАЯ ПЕПТИДОГЛИКАНГИДРОЛАЗА БАКТЕРИОФАГА 3 <i>Aeromonas</i> sp. <i>Мусаева А.А., Чернышов С.В., Молочков Н.В., Прохоров Д.А., Микулинская Г.В.</i> 26 | 26 |
| 1.23. | ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА ПЕПТИДА SEM1(68-107) ПО ДАННЫМ ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ И МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ <i>Осетрина Д.А., Юльметов А.Р., Бикмуллин А.Г., Клочков В.В., Блохин Д.С.</i> 27 | 27 |
| 1.24. | ЗАЩИТНЫЕ АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ ЖИВОТНЫХ: ОТ ИЗУЧЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ДО ПРОТОТИПОВ НОВЫХ АНТИБИОТИКОВ <i>Пантелеев П.В., Болосов И.А., Сафронова В.Н., Баландин С.В., Овчинникова Т.В.</i> 28 | 28 |
| 1.25. | КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА БАКТЕРИАЛЬНОЙ ОЛИГОПЕПТИДАЗЫ Orv В ЗАКРЫТОЙ КОНФОРМАЦИИ: СХОДСТВО И РАЗЛИЧИЕ ФЕРМЕНТОВ ПРОСТЕЙШИХ И БАКТЕРИЙ <i>Петренко Д.Е., Агапова Ю.К., Тимофеев В.И., Михайлова А.Г., Ракина Т.В.</i> 29 | 29 |
| 1.26. | МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ДЕСКРИПТОРЫ И МЕТОДЫ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВОЗМОЖНОСТИ ПРОТЕКАНИЯ РЕАКЦИИ ГЕТЕРОГЕННОГО КАТАЛИЗА <i>Петрова В.В., Соловьев Я.В.</i> 30 | 30 |
| 1.27. | ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ПЕПТИДА PG-1 В ОТНОШЕНИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ МОЗГА <i>Рудель А.Е., Филатенкова Т.А.</i> 31 | 31 |
| 1.28. | ФРАГМЕНТАЦИЯ ОСНОВНОГО БЕЛКА МИЕЛИНА 20S И 26S ПРОТЕАСОМАМИ С РАЗЛИЧНЫМИ КАТАЛИТИЧЕСКИМИ ФЕНОТИПАМИ <i>Саратов Г.А., Новосёлов А.Л., Белогуров А.А., Кудряева А.А.</i> 32 | 32 |
| 1.29. | ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕМСОДЕРЖАЩИХ БЕЛКОВ НЕЙРОГЛОБИНА И ЦИТОХРОМА С МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ <i>Семенова М.А., Бочкова Ж.В., Смирнова О.М., Браже Н.А., Максимов Г.В., Долгих Д.А., Черткова Р.В.</i> 33 | 33 |
| 1.30. | ИЗУЧЕНИЕ СПОСОБНОСТИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФРАГМЕНТОВ ТОКСИНОВ C _{ry} К ФОРМИРОВАНИЮ АМИЛОИДОПОДОБНЫХ АГРЕГАТОВ <i>Смирнов К.В., Белоусов М.В., Нижников А.А., Антонец К.С.</i> 34 | 34 |

- 1.31. НЕОБЫЧНЫЕ СПЕКТРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ОДНОГЕМОВОВОГО ЦИТОХРОМА C ИЗ ГАЛОАЛКАЛОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ РОДА *Thioalkalivibrio*
Соловьёва А.Ю., Варфоломеева Л.А., Дергоусова Н.И., Тихонова Т.В., Попов В.О. 35
- 1.32. ОПТИМИЗАЦИЯ ЭКСПРЕССИИ, ВЫДЕЛЕНИЯ, ОЧИСТКИ И АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПЕРВОГО РЕКОМБИНАНТНОГО ТРЕХПЕТЕЛЬНОГО ТОКСИНА ГАДЮКИ *Vipera nikolskii* И ЕГО МУТАНТНЫХ ФОРМ
Сухов Д.А., Кост В.Ю., Скрипка М.И., Епифанова Л.А., Шелухина И.В. 36
- 1.33. СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ АМИЛОИДНЫХ АГРЕГАТОВ ТИТИНА СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ КРОЛИКА
Урюпина Т.А., Бобылёва Л.Г., Тимченко М.А., Некрасов П.В., Вихлянцев И.М., Бобылёв А.Г. 37
- 1.34. РОЛЬ БЕЛКОВ, СВЯЗАННЫХ С ПАТОГЕНЕЗОМ, В ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ И ЖИЗНИ ЧЕЛОВЕКА
Финкина Е.И., Овчинникова Т.В. 38
- 1.35. ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПРЕССИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА РАСТИТЕЛЬНОГО ДЕФЕНСИНА NaD1
Шевченко О.В., Фатеева С.И., Овчинникова Т.В., Финкина Е.И. 39
- 1.36. АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ БЕЛКОВ MutS ИЗ БАКТЕРИЙ *Rhodobacter sphaeroides* И *Neisseria gonorrhoeae*
Якушкина Ю.В., Монахова М.В. 40

СЕКЦИЯ 2

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ. МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

- 2.1. ИССЛЕДОВАНИЕ ОПУХОЛЕВОГО МАРКЕРА ГЛИОБЛАСТОМЫ С ПОМОЩЬЮ АПТАМЕРОВ К EGFR
Антипова О.М., Копылов А.М. 41
- 2.2. РАЗРАБОТКА ПРОГРАММНОЙ БИБЛИОТЕКИ ДЛЯ РАСЧЕТА ГЕОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ДНК НА ЯЗЫКЕ PYTHON
Васильев В.А., Армеев Г.А. 42
- 2.3. ОЛИГОНУКЛЕОТИД-ПЕПТИДНЫЕ КОНЬЮГАТЫ ТРОМБИНОВОГО АПТАМЕРА С УЛУЧШЕННЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ
Даушева А.Ф., Варижук И.В., Тимофеев Э.Н. 43
- 2.4. ПРИМЕНЕНИЕ АПТАМЕРОВ К EGFR ДЛЯ ТАРГЕТНОЙ ДОСТАВКИ ДОКСОРУБИЦИНА В КЛЕТКИ ГЛИОБЛАСТОМЫ
Иванов Б.М., Антипова О.М., Копылов А.М. 44
- 2.5. ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИЕ МОДУЛЯТОРЫ СТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМНЫХ G-КВАДРУПЛЕКСОВ
Камзеева П.Н., Лизунова С.А., Цветков В.Б., Скворцов Д.С., Иванова О.В., Васильева Л.А., Чистов А.А., Беляев Е.С., Хрулев А.А., Ведехина Т.С., Богомазова А.Н., Лагарькова М.А., Варижук А.М., Аралов А.В. 45

- 2.6. ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА ДИСТАНЦИОННЫХ
ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ МЕЖДУ Su(Hw)-ЗАВИСИМЫМИ
КОМПЛЕКСАМИ
Молодина В.В., Мельникова Л.С., Костюченко М.В., Головнин А.К. .. 46
- 2.7. ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ ПЕПТИДОВ С ВЫСОКОЙ АФФИННОСТЬЮ К
"КИСЛОТНОМУ ЛОСКУТУ" ГИСТОНОВОГО ДИМЕРА H2A/H2B НА
РАЗВОРАЧИВАНИЕ НУКЛЕОСОМ КОМПЛЕКСОМ FАСТ
*Олейников П.Д., Сивкина А.Л., Студитский В.М., Феофанов А.В.,
Шайтан А.К.* 47
- 2.8. БЕЛОК Rad51 КАК СРЕДСТВО ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ
РЕПАРАЦИИ РАЗРЫВОВ ДНК ПО МЕХАНИЗМУ ГОМОЛОГИЧНОЙ
РЕКОМБИНАЦИИ
Рукина А.М., Шепелев М.В. 48
- 2.9. ИЗУЧЕНИЕ РАЗВОРАЧИВАНИЯ НУКЛЕОСОМЫ БЕЛКОВЫМ
КОМПЛЕКСОМ FАСТ
*Сивкина А.Л., Волох О.И., Карлова М.Г., Моисеенко А.В.,
Соколова О.С., Студитский В.М.* 49
- 2.10. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИОННОЙ АКТИВНОСТИ
ВЫСОКОКОНСЕРВАТИВНОГО ГЕНА *Ras85D*
Сивопляс Е.А., Белкина Е.Г., Лазебный О.Е., Куликов А.М. 50
- 2.11. ГОРОХ (*Pisum sativum* L.) В ЭПОХУ ГЕНОМОВ
Соломенникова Ю.Н. 51
- 2.12. СИНТЕЗ БИОСУРФАКТАНТА СУРФАКТИНА В КЛЕТКАХ *B. subtilis*:
ВЛИЯНИЕ 6S-1 РНК
*Трефилов В.С., Елкина Д.А., Буренина О.Ю., Хартманн Р.К.,
Кубарева Е.А., Зверева М.Э.* 52
- 2.13. ИЗУЧЕНИЕ ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫХ МОДИФИКАЦИЙ ГИСТОНОВ
МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ
Шаряфетдинова А.С., Армеев Г.А., Князева А.С. 53

СЕКЦИЯ 3

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ, УГЛЕВОДОВ И НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ

- 3.1. РИЦИН ВЗАИМОДЕЙСТВУЕТ С β Gal-СОДЕРЖАЩИМИ ЭПИТОПАМИ
В СОСТАВЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ
*Ахманов Е.А., Патова О.А., Головченко В.В., Ножель А.Ю.,
Микишина П.В., Бовин Н.В., Полякова С.М., Горщикова Т.А.,
Шилова Н.В.* 54
- 3.2. КЛАСТЕРИЗАЦИЯ ЛИПИДОВ В МОДЕЛЬНЫХ МЕМБРАНАХ ДОФХ/
ДОФС (ПО ДАННЫМ ВЫЧИСЛИТЕЛЬНОГО ЭКСПЕРИМЕНТА)
Веретененко И.И., Трофимов Ю.А., Ефремов Р.Г. 55
- 3.3. НОВЫЙ ПРИРОДНЫЙ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЙ МОДУЛЯТОР
ИОННОГО КАНАЛА TRPV3
Калиновский А.П., Андреев Я.А., Королькова Ю.В. 56

| | | |
|------|--|----|
| 3.4. | СИНТЕЗ АДРЕСНЫХ ЛИПОКОНЬЮГАТОВ, СОДЕРЖАЩИХ RGD-ПЕПТИД <i>Липенский В.М., Маслов М.А.</i> | 57 |
| 3.5. | ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИАКРИЛАМИДНЫХ ПРОБ ДЛЯ КАРТИРОВАНИЯ ГЛИКОКАЛИКСА КЛЕТКИ <i>Пех Д.С., Тузиков А.Б., Савченко М.С., Рыжов И.М., Рапопорт Е.М., Бовин Н.В.</i> | 58 |
| 3.6. | ИССЛЕДОВАНИЕ ГЛИКОПРОФИЛЯ МИКРОВЕЗИКУЛ: СРАВНЕНИЕ С ГЛИКОПРОФИЛЕМ ИСХОДНЫХ КЛЕТОК <i>Сливка Е.В., Шилова Н.В., Образцова Е.А., Капусткина Д.С., Бовин Н.В., Рапопорт Е.М.</i> | 59 |
| 3.7. | РАЗРАБОТКА СИНТЕТИЧЕСКОГО ПОДХОДА К НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМ КОМПОНЕНТАМ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ СИСТЕМЫ ЭНХИТРЕИД <i>Henlea</i> sp. <i>Хохлова А.Н., Вавилов М.В., Царькова А.С., Петушков В.Н., Родионова Н.С.</i> | 60 |

СЕКЦИЯ 4

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

| | | |
|------|---|----|
| 4.1. | ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ РЕКОМБИНАНТНОГО ФЕРМЕНТА МЕТАНОЛДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПОСЛЕ СТУПЕНЧАТОГО ДИАЛИЗА <i>Баклагина С.П.</i> | 61 |
| 4.2. | ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ КРИВИЗНЫ И СОСТАВА ЛИПИДНЫХ МЕМБРАН НА АССОЦИАЦИЮ ПОЛИПРОТЕИНА Gag ВИЧ <i>Блохина Я.В., Батищев О.В.</i> | 62 |
| 4.3. | РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОИЗВОДНОГО МОНОТЕРПЕНОИДА - ПЕРСПЕКТИВНОГО ПРОТИВОПАРКИНСОНИЧЕСКОГО АГЕНТА С ЦЕЛЬЮ ПРОВЕДЕНИЯ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ <i>IN VIVO</i> <i>Горина Д.С., Ластовка А.В., Рогачев А.Д., Подтуркина А.В., Павлова А.В., Волчо К.П.</i> | 63 |
| 4.4. | ИССЛЕДОВАНИЕ ФОСФОРИЛИРОВАННОГО БЕТА-АМИЛОИДА МЕТОДАМИ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА <i>Даничкина К.В., Стрельникова П.А., Кузин А.А., Бугрова А.Е., Индейкина М.И., Кононихин А.С.</i> | 64 |
| 4.5. | СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ ВЫДЕЛЕНИЯ БЕЛКА KCSA ИЗ МЕМБРАННОЙ ФРАКЦИИ <i>Escherichia coli</i> С ПОМОЩЬЮ SMA-EA И TRITON X-100 <i>Деев Я.А., Юнусова В.А., Минеев К.С., Болдырев И.А., Кузьменков А.И., Василевский А.А.</i> | 65 |
| 4.6. | ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ МЕМБРАННОЙ АКТИВНОСТИ БЕЛКА M1 ВИРУСА ГРИППА А <i>Дениева З.Г., Батищев О.В.</i> | 66 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4.7. | ИЗУЧЕНИЕ ЛИГАНД-РЕЦЕПТОРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИМИДЖИНГА КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ, ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКИ ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ НОЦИЦЕПТИВНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ <i>Дубодел Е.С., Козлов С.А.</i> | 67 |
| 4.8. | НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ЭФИРОВ ИНДОЛ-2-КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ <i>Зайцева Э.Р., Смирнов А.Ю.</i> | 68 |
| 4.9. | НОВЫЕ БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ ДЕПО-ФОРМЫ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ НУКЛЕОЗИДОВ <i>Зенченко А.А., Ословский В.Е., Варижук И.В., Дреничев М.С.</i> | 69 |
| 4.10. | ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ОКТА-КАТИОННЫХ КОМПЛЕКСОВ ФТАЛОЦИАНИНА НА МОДЕЛЬНОЙ ЛИПИДНОЙ МЕМБРАНЕ <i>Зыкова Д.Д., Константинова А.Н., Соколов В.С.</i> | 70 |
| 4.11. | ХЕМОДИВЕРГЕНТНАЯ СПИРОЦИКЛИЗАЦИЯ (БЕНЗИЛИДЕН)ИМИДАЗОЛОНОВ - АНАЛОГОВ ХРОМОФОРА ЗЕЛЕННОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БЕЛКА <i>Иванов Д.С., Смирнов А.Ю.</i> | 70 |
| 4.12. | СОЛЮБИЛИЗАЦИЯ ВОДИРУ ЛЮМИНОФОРОВ ПЛЮРОНИКОМ F-127 ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ВО ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ <i>Калинкина В.А., Антина Л.А.</i> | 72 |
| 4.13. | ВЛИЯНИЕ ПРОТОКОЛА РАСЧЁТА НА ОПИСАНИЕ СТАДИИ НУКЛЕОФИЛЬНОЙ АТАКИ РЕАКЦИИ ГИДРОЛИЗА НИТРОЦЕФИНА МЕТАЛЛО- β -ЛАКТАМАЗОЙ L1 <i>Каримуллина Л.Б., Кривицкая А.В., Хренова М.Г.</i> | 73 |
| 4.14. | ОПТИМИЗАЦИЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ИНДИКАТОРА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ АКТИВНЫХ ФОРМ ГАЛОГЕНОВ <i>Катруха В.А.</i> | 74 |
| 4.15. | МОДИФИКАЦИЯ ПОЛИМЕРА SMA ДЛЯ СТРУКТУРНОЙ БИОЛОГИИ <i>Кислова С.О., Мотов В.В., Минеев К.С., Болдырев И.А.</i> | 75 |
| 4.16. | ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ И Е-БЕЛКА КОРОНАВИРУСА С МОДЕЛЬНЫМИ ЛИПИДНЫМИ МЕМБРАНАМИ МЕТОДОМ ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ <i>Кононова П.А., Селютин О.Ю., Поляков Н.Э.</i> | 76 |
| 4.17. | РЕЦЕПТОРЫ СЕМЕЙСТВА Trk: СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ И ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ЛЕКАРСТВАМИ В ОБЛАСТИ МЕМБРАНЫ <i>Кот Э.Ф., Васильева Е.В., Шабалкина А.В., Гончарук С.А., Арсеньев А.С., Минеев К.С.</i> | 77 |
| 4.18. | ВЛИЯНИЕ 7-МЕТИЛГУАНИНА НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПОЛИ(АДФ-РИБОЗО)-ПОЛИМЕРАЗЫ С НУКЛЕОСОМОЙ <i>Лобанова А.А.</i> | 78 |
| 4.19. | МОДЕЛЬ ДЛЯ СЛЕМ-МИКРОСКОПИИ НА ОСНОВЕ ДРОЖЖЕЙ АЭРОБНОГО ТИПА ОБМЕНА <i>Мустафин Д.А., Рогов А.Г.</i> | 79 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4.20. | РАЗРАБОТКА ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БИОСЕНСОРА ДЛЯ РЕГИСТРАЦИИ ацил-КоА <i>IN VIVO</i> <i>Рапота Д.Д., Билан Д.С.</i> | 80 |
| 4.21. | МЕМБРАНОТРОПНЫЕ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА НИТРОЗИЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА С ПЕНИЦИЛЛАМИНОВЫМИ ЛИГАНДАМИ <i>Савушкин М.А., Файнгольд И.И., Полетаева Д.А., Солдатова Ю.В., Санина Н.А.</i> | 81 |
| 4.22. | ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ ЭУКАРИОТИЧЕСКОГО И ПРОКАРИОТИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ МЕТОДОМ КР-СПЕКТРОСКОПИИ <i>Сенковенко А.М.</i> | 82 |
| 4.23. | АРИЛИДЕНРОДАМИНЫ КАК ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ СЕНСОРЫ ПОЛЯРНОСТИ СРЕДЫ <i>Соколов А.И., Мяснянко И.Н., Баранов М.С.</i> | 82 |
| 4.24. | ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОНУТРИЕНТОВ, ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ В ГЕЛЕОБРАЗОВАТЕЛИ НА ОСНОВЕ ПРИРОДНЫХ БИОПОЛИМЕРОВ <i>Сорокина У.Е.</i> | 84 |
| 4.25. | ВЛИЯНИЕ ХИНОНОВ-ХЕЛАТОРОВ НА СКОРОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В МИЦЕЛЛАХ ЛИНОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ <i>Ульянова М.А., Селютин О.Ю., Поляков Н.Э.</i> | 85 |
| 4.26. | РАЗРАБОТКА ИНСТРУМЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СУБКЛЕТОЧНОЙ ДИНАМИКИ ГИПОГАЛОГЕННОГО СТРЕССА <i>Чебаненко В.В.</i> | 86 |
| 5.1. | СИНТЕЗ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 1,2,4-ОКСАДИАЗОЛА И ИХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ <i>Виноградова Л.В., Комарова К.Ю., Лукин А.Ю.</i> | 86 |

СЕКЦИЯ 5

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УЗНАВАНИЯ БИОМОЛЕКУЛ И ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛОВ В КЛЕТКЕ

| | | |
|------|---|----|
| 5.2. | СИНТЕЗ ЛИГАНДА ДЛЯ ТАРГЕТИРОВАННОЙ ДЕГРАДАЦИИ SARS CoV-2 nsp14 <i>Захарова М.А., Чудинов М.В.</i> | 89 |
| 5.4. | КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ПРОТЕОМИКА МЕМБРАННОЙ ФРАКЦИИ КЛЕТОК ПЕРВИЧНОЙ ЛИНИИ ГЛИОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА <i>Майоров В.А.</i> | 90 |
| 5.5. | ДЕТЕКЦИЯ МАРКЕРА CD133 В ГЛИОБЛАСТОМЕ ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ АПТАМЕРОВ <i>Моисеенко В.Л., Антипова О.М., Копылов А.М.</i> | 91 |
| 5.6. | РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ЭНДОГЕННЫХ КАЛЬЦИЙ- АКТИВИРУЕМЫХ ХЛОРНЫХ КАНАЛОВ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМЫМ ВХОДОМ КАЛЬЦИЯ В НЕК293 <i>Номеровская М.А., Шалыгин А.В., Казначеева Е.В., Колесников Д.О.</i> | 92 |

СЕКЦИЯ 6

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТочНЫЕ ОСНОВЫ ИММУНИТЕТА

- 6.1. ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ АДАПТИВНЫХ НК-КЛЕТОК CD57-
Алексеева Н.А., Паламарчук А.И., Стрельцова М.А., Коваленко Е.И. 93
- 6.2. ИНВАЗИЯ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ РОДА *Serratia* В ЭПИТЕЛИОПОДОБНЫЕ ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ ПРИВОДИТ К ВЫРАБОТКЕ ИМИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ
Берсон Ю.М., Горбунов Н.П., Цаплина О.А. 94
- 6.3. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ DEAF1 И SAYR НА ИММУННЫЙ ОТВЕТ У *Drosophila melanogaster*
Гасса М., Степанов Н.Г., Артемова В.Д., Качаев З.М., Шидловский Ю.В. 95
- 6.4. ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ПОВЫШЕНИЯ ВЫЖИВАЕМОСТИ АКВАКУЛЬТУРЫ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ШТАММА *Lactobacillus brevis* 47f ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА
Гришина Е.В., Ватлин А.А., Кочетков Н.И., Даниленко В.Н. 96
- 6.5. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПЕПТИДА C3f СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ
Егорова Е.В., Берлов М.Н., Кренив И.А., Позолотин В.А., Хайдукова М.М. 97
- 6.6. НЕКАНОНИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ В-КЛЕТОК
Жеремян Э.А., Устюгова А.С., Радько А.И., Купраш Д.В., Корнеев К.В. 98
- 6.7. ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ IL6 И IL11 В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПРИ НЕЙРОВОСПАЛЕНИИ
Игнатова П.Д., Ереско С.О., Айрапетов М.И. 99
- 6.8. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ОНКОЛИТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА СЕРОТИПОВ ВИРУСА ВЕЗИКУЛЯНОГО СТОМАТИТА INDIANA И NEW JERSEY
Исаева А.С., Порозова Н.О., Колесник В.В., Володина С.И., Малоголовкин А.С. 100
- 6.9. АНАЛИЗ РЕПЕРТУАРА Т-КЛЕТочНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ С НЕВРОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ
Квичанский А.А., Ивлева А.И., Аверченков Д.М., Ковальчук М.О., Григорьева Т.В., Брылев Л.В., Большаков А.П., Мамедов И.З. 101
- 6.10. СОПОСТАВЛЕНИЕ ПРОФИЛЕЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ АНТИГЛИКАНОВЫХ IgA И IgG РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ И СЫВОРОТКИ КРОВИ
Лаврентьева М.В., Бовин Н.В., Нокель А.Ю., Шилова Н.В. 102
- 6.11. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНТИ-T_H-АНТИТЕЛ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ И БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА
Липатников А.Д., Обухова П.С., Бовин Н.В., Бутылин А.А., Шилова Н.В. 103

- 6.12. РОЛЬ IL-4R И IL-5R В РАЗВИТИИ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ, ИНДУЦИРУЕМОГО У МЫШЕЙ
Мурова Е.Д., Сервули Е.А., Болховитина Е.Л., Вавилова Ю.Д., Сапожников А.М., Шевченко М.А. 104
- 6.13. ХИМЕРНЫЕ БЕЛКИ БТШ70М-БАРСТАР И БАРСТАР-БТШ70М ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКИ БТШ70 К ПОВЕРХНОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК
Овсянникова О.В., Алексеева Л.Г., Шульга А.А., Проценко А.Р., Гречихина М.А., Деев С.М., Сапожников А.М. 105
- 6.14. АНАЛИЗ КАТАЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ СУБФРАКЦИЙ IgG ПЛАЗМЫ КРОВИ ДОНОРОВ, ПЕРЕБОЛЕВШИХ COVID-19 И ВАКЦИНИРОВАННЫХ Sputnik V
Онвумере М.К., Толмачева А.С., Тимофеева А.М., Седых С.Е., Невинский Г.А. 106
- 6.15. ВЛИЯНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНО-НАПРАВЛЕННЫХ КУРКУМИНОИДОВ НА МИТОХОНДРИИ ТУЧНЫХ КЛЕТОК
Павлюченкова А.Н., Кузнецова М.К., Челомбитько М.А. 107
- 6.16. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ВАКЦИНАЦИИ НА ОСНОВЕ ФДТ-ИНДУЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК ГЛИОМЫ GL261 С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФОТОСЕНСА
Редькин Т.С., Савюк М.О., Слепцова Е.Е., Турубанова В.Д., Ведунова М.В., Крысько Д.В. 108
- 6.17. АНАЛИЗ ЭКСПОНИРОВАНИЯ КАЛЬРЕТИКУЛИНА НА ПОВЕРХНОСТИ КЛЕТОК ГЛИОМЫ, ПОДВЕРГШИХСЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКИ-ИНДУЦИРУЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕТРААРИЛТЕТРААНОПОРФИРАЗИНА (pz II)
Слепцова Е.Е., Турубанова В.Д., Редькин Т.С., Савюк М.О., Ведунова М.В., Крысько Д.В. 109
- 6.18. ИССЛЕДОВАНИЕ *IN VITRO* ВЛИЯНИЯ ДЕФЕНСИНОВ Psd1 и Psd2 НА ИММУННЫЙ ОТВЕТ КЛЕТОК КИШЕЧНОГО ЭПИТЕЛИЯ В УСЛОВИЯХ КАНДИДОЗА
Фатеева С.И., Богданов И.В., Воробаев А.Д., Овчинникова Т.В., Финкина Е.И. 110
- 6.19. ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕРЕКРЕСТНОЙ РЕАКТИВНОСТИ GLy m 4 СОИ И ОСНОВНОГО АЛЛЕРГЕНА ПЫЛЬЦЫ БЕРЕЗЫ Bet v 1
Финкина Е.И., Данилова Ю.Д., Матвеевская Н.С., Овчинникова Т.В. 111
- 6.20. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУБЪЕДИНИЧНОГО СОСТАВА И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РОЛИ ГЕТЕРОМЕРНЫХ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В МАКРОФАГАХ ЧЕЛОВЕКА
Холошенко И.В., Синявин А.Э., Кост В.Ю., Шелухина И.В. 112
- 6.21. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ ОПУХОЛЬ-ИНФИЛЬТРИРУЮЩИХ В-ЛИМФОЦИТОВ ПАМЯТИ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ИММУНОГЛОБУЛИНЫ А И G1
Щока Е.В., Лукьянов Д.К., Брюшкова А.А., Чудаков Д.М., Серебровская Е.О. 113

СЕКЦИЯ 7

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ КЛЕТОЧНЫХ ПРОЦЕССОВ И МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

- 7.1. ИНГИБИРОВАНИЕ КИНАЗЫ МТОР ИНДУЦИРУЕТ ПОКОЯЩЕЕСЯ СОСТОЯНИЕ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК
Александрова К.В., Суворова И.И. 114
- 7.2. FMRF И FXR2 - ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ РНП-ГРАНУЛ, СОДЕРЖАЩИХ АМИЛОИДНЫЕ ФИБРИЛЛЫ БЕЛКА FXR1
Валина А.А., Галкин А.П. 115
- 7.3. ДИНАМИКА ПРОДУКЦИИ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА И ЭФФЕКТ СВИДЕТЕЛЯ В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ
Горохова А.А., Бугрова Ю.С., Пескова Н.Н., Балалаева И.В. 116
- 7.4. ВОЗМОЖНОЕ УЧАСТИЕ NO В ПРОЦЕССАХ РЕГУЛЯЦИИ СВЕТОВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ СЕТЧАТКИ *Lutnaea stagnalis*
Домнинова И.Н., Сафонов М.В., Коломыцев Р.Е. 117
- 7.5. ТРЕТ-БУТИЛГИДРОПЕРОКСИД В КАЧЕСТВЕ ИНДУКТОРА ПЕРОКСИДНОГО ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ
Дубенская Н.А., Соколова Е.М., Психа Б.Л., Нешев Н.И. 118
- 7.6. ПРЕДСКАЗАНИЕ БЕЛОК-БЕЛКОВЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В КОМПЛЕКСЕ MutL- β -«ЗАЖИМ» ИЗ *Neisseria gonorrhoeae*
Литвинова А.В., Савицкая В.Ю. 119
- 7.7. АНАЛИЗ МАРКЕРОВ КЛЕТОЧНОГО СТАРЕНИЯ В КЛЕТКАХ МИОКАРДА НА РАЗНЫХ СРОКАХ ПОСЛЕ ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНФАРКТА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА У КРЫС
Матюхин А.А., Цорин И.Б., Мирошкина И.А., Крыжановский С.А., Шрам С.И. 120
- 7.8. РЕГУЛЯЦИЯ ПОСТИНТЕГРАЦИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ВИЧ-1
Нефедова А.А., Анисенко А.Н. 121
- 7.9. РЕПАРАЦИЯ ДНК ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ МАЛЫХ ДОЗ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ В ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТАХ ЧЕЛОВЕКА
Ноздрачева А.В., Плещач Н.М., Куранова М.Л., Воробьев К.В. 122
- 7.10. ИССЛЕДОВАНИЕ МОДУЛЯЦИИ ОТВЕТА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК НА ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ И РАЗЛИЧНЫЕ ВИДЫ ДЕПРИВАЦИИ ПРИ ПЕРЕХОДЕ К ТРЕХМЕРНОМУ КУЛЬТИВИРОВАНИЮ
Сенча Л.М., Добрынина О.Е., Поспелов А.Д., Гурьев Е.Л., Черкасова Е.И., Балалаева И.В. 123
- 7.11. ВИЗУАЛИЗАЦИЯ БЕЛКОВ В БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОМЕТОК
Тин П.А., Крючкова А.К., Томилина М.А., Зубарев И.В. 124

- 7.12. ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ОСНОВ УМСТВЕННОЙ ОТСТАЛОСТИ ПРИ СИНДРОМЕ КОФФИНА-СИРИСА В МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЕ *Drosophila melanogaster*
Токарев А.Т., Степанов Н.Г., Чмыхало В.К., Деев Р.В., Шидловский Ю.В. 125
- 7.13. МУТАЦИИ ГЕНОВ БЕЛКОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ мтДНК ВЛИЯЮТ НА СОПРЯЖЕНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ В КЛЕТКАХ
Шитикова Е.Ю., Казаков М.С., Попов Д.Ю., Борисов Е.Е. 126
- 7.14. МОДЕЛИРОВАНИЕ РЕДОКС-СИГНАЛИНГА В ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОМ БАРЬЕРЕ *IN VITRO*
Шувалова М.Л., Носов Г.А., Белоусов В.В. 127
- 7.15. ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО МЕХАНИЗМА ОТВЕТА ЗРЕЛЫХ АДИПОЦИТОВ 3T3-L1 НА ДЕЙСТВИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-4
Юдаева А.Д., Мичурина С.С., Стафеев Ю.С., Парфёнова Е.В. 128

СЕКЦИЯ 8

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ И БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ

- 8.1. РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА ALOX15 КАК БЕЛКОВОГО ОНКОМАРКЕРА
Аксенов В.В., Шошина Н.С., Гаврилюк В.Н., Голованов А.Б., Журавлев А.М., Степаненко В.Н., Иванов И.В. 129
- 8.2. СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ НОВЫХ МОДИФИЦИРОВАННЫХ НУКЛЕОЗИДОВ
Алексахина И.А., Каюшин А.Л., Арнаутова А.О. 130
- 8.3. ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОДЛИННОСТИ ПРОДУКЦИИ ИЗ ЦИТРУСОВЫХ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ПИГМЕНТОВ МЕТОДОМ ТСХ
Андрусенко Е.А., Каданова А.А. 131
- 8.4. ПЛАЗМОННЫЕ НАНОМАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ НИТРИДОВ МЕТАЛЛОВ ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ
Бабкова Ю.С., Зелепукин И.В., Деев С.М. 132
- 8.5. КОМБИНАЦИЯ ГИДРОФИЛЬНОЙ И ОБРАЩЕННО-ФАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ И МОНОЛИТНОЙ КОЛОНКИ НА ОСНОВЕ 1-ВИНИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛА ДЛЯ ТАРГЕТИРОВАННОГО МЕТАБОЛОМНОГО СКРИНИНГА МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС/МС
Басов Н.В., Розачев А.Д., Сотникова Ю.С., Патрушев Ю.В., Покровский А.Г. 133
- 8.6. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СИНЯКА ОБЫКНОВЕННОГО *E. vulgare*
Бахтиярова А.Х., Бабич О.О., Дерябина Е.А., Ларина В.В. 134
- 8.7. ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ БИОСИНТЕЗА ВИТАМИНОВ НА ПРИМЕРЕ ВИТАМИНА С
Безбородов Г.А., Окольников Ф.Б. 135

- 8.8. ИССЛЕДОВАНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ МИКРОВЕЗИКУЛ В КЛЕТКЕ МЕТОДОМ СКАНИРУЮЩЕЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСПЕКТРОСКОПИИ
Белицкая Е.Д., Комарова В.А., Рапопорт Е.М., Тузиков А.Б., Бовин Н.В., Олейников В.А., Залыгин А.В. 136
- 8.9. ТЕХНОЛОГИЯ БИОДЕГРАДАЦИИ ПОЛИМЕРОВ С ПОМОЩЬЮ МИКРООРГАНИЗМОВ КИШЕЧНИКА ГУСЕНИЦ *Galleria mellonella*
Боровлева П.И., Санкова А.В., Чумаков А.А. 137
- 8.10. РАЗРАБОТКА ГЕТЕРОГЕННОГО ИЗОТЕРМИЧЕСКОГО АМПЛИФИКАЦИОННОГО АНАЛИЗА ДНК-МИШЕНЕЙ, ОСНОВАННОГО НА ТРАНС-НУКЛЕАЗНОЙ АКТИВНОСТИ Cas12a
Буркин К.М., Сафенкова И.В., Иванов А.В., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. 138
- 8.11. РОСТСТИМУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ФОСФАТМОБИЛИЗИРУЮЩЕГО ШТАММА *Pseudomonas* sp. GEOT18
Бычкова А.А., Зайцева Ю.В. 139
- 8.12. МИКРОРАЗМЕРНЫЙ ПОТЕНЦИАЛЬНО ИМПЛАНТИРУЕМЫЙ ФЕРМЕНТНЫЙ БИОТОПЛИВНЫЙ ЭЛЕМЕНТ НА ОСНОВЕ КАРБОНИЗИРОВАННОЙ НИТИ
Вахницкая Е.С., Парунова Ю.М. 140
- 8.13. ИССЛЕДОВАНИЕ АЛЛОРЕАКТИВНОСТИ Т-КЛЕТОК, НОКАУТНЫХ ПО CD45
Волков Д.В., Украинская В.М., Масчан М.А., Степанов А.В. 141
- 8.14. ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАТНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЭКСТРАКТОВ КОРНЯ ВАЛЕРИАНЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ (*Valeriana officinalis* L.)
Воронова С.С., Сухих С.А., Ларина В.В., Бабич О.О. 142
- 8.15. НАНОЧАСТИЦЫ КАРБИДА ТИТАНА ДЛЯ ФОТОТЕРМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ
Горелик Л.В., Зелепукин И.В., Бабкова Ю.С., Деев С.М. 143
- 8.16. ПЕРОКСИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ МАГНЕТИТА В ПРИСУТСТВИИ БЕЛКОВ КРОВИ
Горобец М.Г., Мотякин М.В., Абдуллина М.И., Бычкова А.В. 144
- 8.17. ГИБРИДНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ Fe-Au ДЛЯ МУЛЬТИМОДАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ И ФОТОТЕРМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ
Грязнова О.Ю., Беляев Я.Б., Зелепукин И.В., Деев С.М. 145
- 8.18. СУСПЕНЗИОННАЯ КУЛЬТУРА *Scutellaria baicalensis* Georgi КАК ПЛАТФОРМА ДЛЯ ПРОДУКЦИИ ФЛАВОНОИДОВ
Данилова А.А. 146
- 8.19. МОДЕЛИРОВАНИЕ САМОСБОРКИ НЕОГЛИКОЛИПИДОВ НА ОСНОВЕ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ
Димитриева В.А., Васкан И.С., Тузиков А.Б., Олейников В.А., Бовин Н.В., Залыгин А.В. 147

- 8.20. ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТИ L-АСПАРАГИНАЗ ТЕРМОФИЛЬНЫХ И МЕЗОФИЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ
Добрякова Н.В., Жданов Д.Д., Шиштарёнок А.Н., Генин А.К., Жгун А.А., Александрова С.С., Покровская М.В., Думина М.В., Кудряшова Е.В. 148
- 8.21. РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПЦР ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ГЕМОЛИТИЧЕСКИХ ШТАММОВ АЭРОМОНАД
Доколин Д.А., Зайцева Ю.В. 149
- 8.22. ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ *Microbacterium* sp. В КАЧЕСТВЕ БИОДЕСТРУКТОРА ПОЛИМЕРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
Евдокимова Ю.С., Астахов П.С., Мурзина Е.Д. 150
- 8.23. ГАЛОФИЛЬНЫЕ МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА ИЗ НЕФТЯНЫХ ПЛАСТОВ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН И ИХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ
Ершов А.П., Семенова Е.М., Биджиева С.Х., Назина Т.Н. 151
- 8.24. ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ЕСТЕСТВЕННЫХ АНТИТЕЛ ЧЕЛОВЕКА К ДИСАХАРИДУ GlcNAc β 1 \rightarrow 3GalNAc α (CORE 3)
Ефимова В.Е., Липатников А.Д., Бовин Н.В., Шилова Н.В. 152
- 8.25. СИНТЕЗ НОВЫХ ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОЗИДОВ - АНАЛОГОВ АГОНИСТОВ АДЕНОЗИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ
Жаворонкова О.Н., Елецкая Б.З., Гроза Н.В., Берзина М.Я. 152
- 8.26. ПОЛУЧЕНИЕ ПОЛИВАЛЕНТНЫХ МОЛЕКУЛ НА ОСНОВЕ НАНОТЕЛ, НЕЙТРАЛИЗУЮЩИХ SARS-CoV-2
Жучков В.А., Чумаков С.П. 154
- 8.27. ДНК-РЕГИСТРИРУЮЩИЙ АГЕНТ, ОСНОВАННЫЙ НА "УМНЫХ" МАТЕРИАЛАХ
Завалко Ф.А., Новичихин Д.О., Орлов А.В., Шипунова В.О. 155
- 8.28. ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ ДИНОФИТОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ *Pyrocystis lunul*
Загитова Р.И., Синетова М.А., Ямпольский И.В., Осипова З.М. 156
- 8.29. ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО ГОЛОДАНИЯ НА РОСТ И НАКОПЛЕНИЕ МЕТАБОЛИТОВ КЛЕТКАМИ *Coelastrella* sp. IPPAS H-626
Заднепровская Е.В., Крапивина А.А., Синетова М.А., Аллахвердиев С.И. 157
- 8.30. СОПОСТАВЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА СОСТАВА МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА МЕТОДАМИ qPCR И NGS
Злобовская О.А., Дементьева Е.В., Мешков И.О., Бикаева И.О., Глазунова Е.В., Яфарова А.А., Загайнова А.В., Шипулин Г.А. 158
- 8.31. ХИМИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ 3'-ДЕЗОКСИРИБОЗИДА 2-АМИНОБЕНЗИМИДАЗОЛА
Зорина Е.А., Каюшин А.Л., Арнаутова А.О., Константинова И.Д. ... 159

- 8.32. ГИБРИДНЫЙ БИСПЕЦИФИЧНЫЙ БЕЛОК DR5-B-iRGD С ПОВЫШЕННОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ ПРОТИВ ГЛИОБЛАСТОМЫ
Исакова А.А., Воронцова Е.В., Курбанова Л.А., Марквичева Е.А., Артыков А.А., Долгих Д.А., Гаспарян М.Э., Яглович А.В. 160
- 8.33. СОЗДАНИЕ И АНАЛИЗ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ПЕГИЛИРОВАННЫХ КОНЪЮГАТОВ scFv-ФРАГМЕНТОВ GD2-СПЕЦИФИЧНЫХ АНТИТЕЛ С ПРЕПАРАТАМИ ГРУППЫ МАЙТАНЗИНОВ
Калиновский Д.В., Доронин И.И., Холоденко И.В., Деев С.М., Холоденко Р.В. 161
- 8.34. МАГНИТНО-ПОЛИМЕРНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ ФОТОИНДУЦИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ HER2-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ
Коваленко В.Л., Колесникова О.А., Комедчикова Е.Н., Штупунова В.О. 162
- 8.35. РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ТРАНСГЕННОЙ ТКАНИ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ *Fabaceae*
Козлов Н.В., Симонова В.Ю., Красноперова Е.Ю., Поценковская Э.А., Творогова В.Е., Лутова Л.А. 163
- 8.36. ИССЛЕДОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БПК-БИОСЕНСОРА НА ОСНОВЕ ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫХ БАКТЕРИЙ *Paracoccus yeei* ВКМ В-3302
Козлова Т.Н., Юдина Н.Ю. 164
- 8.37. ВЛИЯНИЕ СИГНАЛЬНОГО ПЕПТИДА НА СЕКРЕЦИЮ БЕТА-ЦЕПЕЙ ГЛИКОПРОТЕИДНЫХ ГОРМОНОВ
Колесов Д.Э., Синегубова М.В., Даянова Л.К., Орлова Н.А., Воробьев И.И. 165
- 8.38. МОДИФИКАЦИЯ НАНОЧАСТИЦ ВИСМУТА ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ К РАКОВЫМ КЛЕТКАМ
Короткова Н.А., Котельникова П.А., Кабашин А.В., Деев С.М. 166
- 8.39. ПОСТРОЕНИЕ МНОЖЕСТВЕННЫХ ВЫРАВНИВАНИЙ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ МЕТОДОМ MANDS
Костенко Д.О., Коротков Е.В. 167
- 8.40. ПОЛУЧЕНИЕ КОМПОЗИТНЫХ СКАФФОЛДОВ НА ОСНОВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ С ПОМОЩЬЮ РЕАКЦИЙ, АКТИВИРУЕМЫХ СВЕТОМ ИЗ ОКНА ПРОЗРАЧНОСТИ ТКАНИ
Кузьева В.И., Сочилина А.В., Савельев А.Г., Хайдуков Е.В., Генералова А.Н. 168
- 8.41. ГЛУБОКОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ РАЗНООБРАЗИЯ ПРИРОДНЫХ РЕПЕРТУАРОВ АНТИТЕЛ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ВАКЦИНАЦИИ СПУТНИК V И PFIZER
Малабуйок Д.М., Мокрушина Ю.А., Терехов С.С., Смирнов И.В., Овчинникова Л.А., Ломакин Я.А., Абрикосова В.А., Баранова М.Н. ... 169

- 8.42. ПОЛУЧЕНИЕ СОРБЕНТОВ ИЗ БИОМАССЫ МЕТОДОМ ГИДРОТЕРМАЛЬНОГО ОЖИЖЕНИЯ И АНАЛИЗ ИХ СОРБЦИОННЫХ СВОЙСТВ
Муравьева Н.А., Куликова Ю.В., Бабич О.О. 170
- 8.43. ДЕГРАДАЦИЯ МЕТАЛЛ-ОРГАНИЧЕСКИХ ЧАСТИЦ NH₂_MPL-101(Cr) В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ
Норец К.Д., Грязнова О.Ю., Зелепукин И.В., Деев С.М. 171
- 8.44. ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОЙ ДЕПОЛИМЕРАЗЫ БАКТЕРИОФАГА Vb_KPNP-KLYAZMA
Оснач В.А., Шабалина А.В., Городничев Р.Б., Шитиков Е.А., Долгова А.С. 172
- 8.45. ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТНЫХ ФОРМ РЕКОМБИНАНТНОГО ПЫЛЬЦЕВОГО АЛЛЕРГЕНА ОЛЬХИ *Aln g 1*
Потапов А.Е., Мельникова Д.Н., Богданов И.В., Овчинникова Т.В. ... 173
- 8.46. МОДИФИКАЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ ДИАТОМОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ ПОРИСТЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ
Похоруюков Д.А., Грязнова О.Ю., Деев С.М. 174
- 8.47. ТРАНСКРИПТОМНО-ОПОСРЕДОВАННЫЙ ДИЗАЙН ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ГЕН-ИММУННЫХ ПРЕПАРАТОВ
Ракитина О.А., Кузьмич А.И., Дидыч Д.А., Кондратьева С.А., Безбородова О.А., Пleshкан В.В., Сасс А.В., Алексеенко И.В. 175
- 8.48. АНАЛИЗ ГЕНОМОВ γ -ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ, СОБРАННЫХ *DE NOVO* НА ОСНОВЕ ДАННЫХ RNA-Seq РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ ИЗ МОСКОВСКОЙ И АСТРАХАНСКОЙ ОБЛАСТЕЙ РФ
Самарская В.О., Грызунов Н.С., Спеченкова Н.А. 176
- 8.49. ДОСТАВКА НАНОЧАСТИЦ В КЛЕТКИ С ПОМОЩЬЮ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИТОХОНДРИЙ
Синицына А.П., Иванов И.Н., Зелепукин И.В., Шипунова В.О., Деев С.М. 177
- 8.50. 3D-МОДЕЛИ ОПУХОЛЕЙ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ ТЕРАНОСТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ *IN VITRO*
Согомонян А.С., Котельникова П.А., Шилова О.Н., Шипунова В.О., Звягин А.В., Деев С.М. 178
- 8.51. ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА МАЛОУГЛОВОГО РЕНТГЕНОВСКОГО РАССЕЙЯНИЯ ДЛЯ КОНТРОЛЯ САМОСБОРКИ БЕЛКОВЫХ НАНОЧАСТИЦ
Сударев В.В., Рижиков Ю.Л., Гетте М.С., Баженов С.В., Манухов И.В., Куклин И.А., Власов А.В. 179
- 8.52. РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ БЕЛКА Cas9 НА ПОВЕРХНОСТИ AAV-ВЕКТОРА
Таран Ю.А. 180
- 8.53. СВЕЯЩИЕСЯ РАСТЕНИЯ КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОФАБРИКИ ПО ПОЛУЧЕНИЮ БЕЛКОВ ДЛЯ ВАКЦИН
Тихонова П.Е., Нежданова А.В. 181

- 8.54. АДАПТАЦИЯ ПРОТОКОЛОВ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ ВАРИАНТОВ
КОРОНАВИРУСА SARS-Cov-2 ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НОВЫХ
ШТАММОВ
Чистякова А.К., Степанова Е.А., Исакова-Сивак И.Н., Руденко Л.Г. 182
- 8.55. ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА АЭРОБНЫХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ
ПОЧВЫ В ПРИСУТСТВИИ ПЛАСТИКОВЫХ ОТХОДОВ
*Ширинкина Л.И., Тактарова Ю.В., Клюкина А.А., Панова Т.В.,
Котова И.Б.* 183
- 8.56. ПОЛУЧЕНИЕ МЕТАЛ-СОДЕРЖАЩИХ ГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ
ХИТОЗАНА МЕТОДОМ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО
ТЕРМОИНДУЦИРОВАННОГО РАЗДЕЛЕНИЯ ФАЗ
Шмакова А.Э., Вихров А.А. 184
- 8.57. ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ
МЕРОПЕНЕМА, ЦЕФТРИАКСОНА И ЛЕВОФЛОКСАЦИНА С
ЧЕЛОВЕЧЕСКИМ СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ
Якупова Л.Р., Копнова Т.Ю., Скурядина А.А., Кудряшова Е.В. 185

СЕКЦИЯ 9

БИОМЕДИЦИНСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- 9.1. ВВЕДЕНИЕ ПЛАЗМИДЫ NGF/VEGF УВЕЛИЧИВАЕТ ЭКСПРЕССИЮ
КОМПЛЕКСОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ В ИШЕМИЗИРОВАННОЙ
СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОЖИРОВОЙ ДИЕТЫ
*Агарёва М.Ю., Мичурина С.С., Болдырева М.А., Меньшиков М.Ю.,
Стафеев Ю.С., Макаревич П.И., Парфёнова Е.В.* 186
- 9.2. ИЗУЧЕНИЕ СЕРОТИПОВОГО СОСТАВА *Streptococcus pneumoniae* У
ДЕТЕЙ ДО ПЯТИ ЛЕТ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ
Александрова Е.В., Никитина Е.В. 187
- 9.3. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РЕДОКС-СОСТОЯНИЯ
ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИЙ И БЕЛОК-ЛИПИДНОГО
СОСТАВА ЦИТОПЛАЗМЫ АСТРОЦИТОВ И НЕЙРОНОВ В
ПЕРЕЖИВАЮЩИХ СРЕЗАХ ГИППОКАМПА МЫШИ
*Алтунина А.В., Морозова К.И., Попов А.В., Семьянов А.В.,
Бражес Н.А., Олейников В.А.* 188
- 9.4. НАНОЧАСТИЦЫ БЕРЛИНСКОЙ ЛАЗУРИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И
ТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
*Балышева К.Д., Комкова М.А., Карякин А.А., Белоусов В.В.,
Абакумова Т.О.* 189
- 9.5. СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ ЦИКЛОАЛКЕНДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ
И ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ
Блинова А.С., Фирстова А.А., Кофанов Е.Р., Ковалева М.И. 190
- 9.6. РАЗРАБОТКА ТАРГЕТНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ
НА ОСНОВЕ ТЕТРАПИРРОЛОВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В
ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ
Бортневская Ю.С., Ширяев Н.А., Жданова К.А., Брагина Н.А. 191

- 9.7. БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ ПОЛИСАХАРИДЫ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ, КАК ОСНОВА ДЕПО-ПРЕПАРАТОВ
Ванюшенкова А.А., Белов А.А. 192
- 9.8. ИЗУЧЕНИЕ БИОСОВМЕСТИМОСТИ МАКРОПОРИСТЫХ БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ МАТРИКСОВ, СОДЕРЖАЩИХ МАГНИТНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ
Гладких Д.А., Махонина А.А., Дроздова М.Г., Сажнев Н.А., Веселов М.М., Кильдеева Н.Р., Клячко Н.Л., Марквичева Е.А. 193
- 9.9. ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ПЕРВИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ ГЛИОБЛАСТОМЫ
Гондаренко Е.А., Мазур Д.В., Антипова Н.В., Кудрявцев Д.С., Шахпаронов М.И., Цетлин В.И. 194
- 9.10. ПОТЕНЦИАЛ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ НАТУРАЛЬНОГО ШЕЛКА ПАУКА ДЛЯ НУЖД ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ
Дауди Д.И., Горевич Г.И., Гринь Н.А. 195
- 9.11. ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ МЕТАБОЛИЗМА КЛЕТОК ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ БОЛЕЗНИ ЛЕША-НИХЕНА
Долгих А.И., Тагунов П.А. 196
- 9.12. АНАЛИЗ РАЗНООБРАЗИЯ БАКТЕРИЙ НА ПОВЕРХНОСТЯХ РС МКС МЕТОДОМ МЕТАБАРКОДИНГА
Жукова Е.А., Булаев А.Г., Поддубко С.В. 197
- 9.13. ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОГО ПОТЕНЦИАЛА ТЕТРАНИТРОЗИЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА С ПЕНИЦИЛЛАМИНОВЫМИ ЛИГАНДАМИ НА МОДЕЛИ КАРДИОТОКСИЧНОСТИ У МЫШЕЙ
Забельникова А.М., Файнгольд И.И., Санина Н.А., Смолина А.В. 198
- 9.14. ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НАНОЧАСТИЦ LaB6 В УСЛОВИЯХ ОБЛУЧЕНИЯ ЛАЗЕРОМ И БЕЗ *IN VITRO*
Ильсов А.Р., Баранова А.С., Гостева Е.А. 199
- 9.15. СОДЕРЖАНИЕ КИНУРЕНИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ В НОРМЕ И ПРИ ОЖИРЕНИИ
Кайдошко С.С., Ягодкина Е.М. 200
- 9.16. АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ ТРАНСКРИПТОМА МИОКАРДА РОССИЙСКИХ ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЕЛОЙ ФОРМОЙ ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ
Класс А.Л., Власов И.Н., Шадрин М.И., Сломинский П.А., Лысенко А.В., Салагаев Г.И., Филатова Е.В. 201
- 9.17. ИНГИБИРОВАНИЕ РЕПРОДУКЦИИ РНК-ВИРУСОВ ПРЕПАРАТАМИ БЕНГАЛЬСКОГО РОЗОВОГО В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК
Колпакова Е.С., Карпова Е.В., Шустова Е.Ю., Аралов А.В., Камзеева П.Н., Козловская Л.И. 202

- 9.18. ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ПРЕИМУЩЕСТВО ДВУХСТАДИЙНОЙ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ НАНОЧАСТИЦ, ЗАГРУЖЕННЫХ ДОКСОРУБИЦИНОМ, ПО СРАВНЕНИЮ С ОДНОСТАДИЙНОЙ ДОСТАВКОЙ
Комедчикова Е.Н., Шипунова В.О., Коваленко В.Л., Терёшина Е.Д., Колесникова О.А., Котельникова П.А., Согомонян А.С., Никитин М.П., Деев С.М. 203
- 9.19. РОЛЬ МОНОЦИТОВ В ИНИЦИАЦИИ ОТТОРЖЕНИЯ ДЕНТАЛЬНЫХ ИМПЛАНТАТОВ
Костенко В.В., Лабис В.В., Демин Д.Э. 204
- 9.20. ИССЛЕДОВАНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ТАРГЕТНОЙ И ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА
Крылова Л.В., Карпова М.А., Шульга А.А., Коновалова Е.В., Гурьев Е.Л., Деев С.М., Балалаева И.В. 205
- 9.21. РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ЭКСПРЕССИИ И ОЧИСТКИ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА L1 ПАПИЛЛОМАВИРУСА HPV16 206
Куклянова В.В., Долгова А.С., Шабалина А.В. 206
- 9.22. ВЛИЯНИЕ КОРТИКОСТЕРОНА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ, СВЯЗАННЫХ С РАЗВИТИЕМ ДЕПРЕССИИ, В КУЛЬТУРЕ АСТРОГЛИОМЫ КРЫСЫ ЛИНИИ C6
Курко О.Д., Топникова М.Н., Долотов О.В., Гривенников И.А. 207
- 9.23. АДРЕСНАЯ ДОСТАВКА К РАКОВЫМ КЛЕТКАМ ГИБРИДНЫХ КОНСТРУКЦИЙ НА ОСНОВЕ ФЕРРИТИНА, БАРНАЗЫ И DARPIn9
Лосева Т.В., Фролова А.Ю., Мамаева А.А., Какуев Д.Л., Мартынов В.И., Пахомов А.А. 208
- 9.24. ЭКСПРЕССИОННЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ В ТКАНЯХ МОЗГА МЫШЕЙ С МФТП-ИНДУЦИРОВАННОЙ МОДЕЛЬЮ РАННЕЙ СИМПТОМНОЙ СТАДИИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА
Лукашевич М.В., Семенова Е.И., Руденок М.М., Шадрин М.И., Угрюмов М.В., Колачева А.А., Сломинский П.А., Алиева А.Х. 209
- 9.25. ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУР ГЛИОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА В РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ
Мазур Д.В., Гондаренко Е.А., Антипова Н.В., Павлюков М.С., Шапаронов М.И., Кудрявцев Д.С. 210
- 9.26. БЕЗАНТИТЕЛЬНЫЕ F13-CAR Т-КЛЕТКИ ДЛЯ ТАРГЕТИРОВАНИЯ ТИРОЗИНКИНАЗНОГО РЕЦЕПТОРА F13 ПРИ ОСТРОМ МИЕЛОИДНОМ ЛЕЙКОЗЕ
Майорова В.Е., Моллаев М.Д., Вихрева П.Н., Кибардин А.В., Масчан М.А., Ларин С.С. 211
- 9.27. ПРИМЕНЕНИЕ СТАТИСТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ АНАЛИЗА СПЕКТРОВ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ ГЛИОМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА
Макаренко В.Ю., Олейников В.А., Бражне Н.А., Залыгин А.В. 212

- 9.28. ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РЯДА
ОТЕЧЕСТВЕННЫХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ В
ОТНОШЕНИИ СПЕРМАТОЗОИДОВ ПЕТУХА ПРИ УСЛОВИЯХ
ХРАНЕНИЯ СПЕРМЫ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ДЛЯ ИСКУССТВЕННОГО
ОСЕМЕНЕНИЯ
Марченко Д.С., Емануйлова Ж.В., Шрам С.И. 213
- 9.29. СИНТЕЗ БИМЕДИЦИНСКИХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ
ПРИРОДНЫХ БИОПОЛИМЕРОВ И ПАПАИНА
Матиев О.В., Ванюшенкова А.А., Белов А.А. 214
- 9.31. МЕТОДЫ, СНИЖАЮЩИЕ ФИЛЬТРАЦИЮ НАНОЧАСТИЦ ПЕЧЕНЬЮ
Миркасымов А.Б., Деев С.М. 216
- 9.32. ЭКСПРЕССИЯ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ
РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ЭНДОМЕТРИОЗЕ
*Мишанова А.В., Мазур Д.В., Леваков С.А., Кавиладзе М.Г.,
Вехтева Е.Н., Холошенко И.В., Гондаренко Е.А., Цетлин В.И.,
Антипова Н.В.* 217
- 9.33. СОЗДАНИЕ ПОКРЫТИЯ ИЗ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА
ПОВЕРХНОСТИ НАНОЧАСТИЦ С АНТИСТОКСОВОЙ
ФЛУОРЕСЦЕНЦИЕЙ
*Морозова С.А., Демина П.А., Кошелев А.В., Акасов Р.А., Крылов И.В.,
Хайдуков Е.В., Генералова А.Н.* 218
- 9.34. ТЕРМОГЕНЕТИЧЕСКАЯ АКТИВАЦИЯ НЕЙРОНОВ *IN VIVO*
*Мухаметишина Л.Ф., Солотёнков М.А., Солос Г.М., Джампи Д.,
Мальцев Д.И., Ланин А.А., Федотов И.В., Федотов А.Б., Соколов Р.А.,
Мощенко А.А., Розов А.В., Жёлтиков А.М., Подгорный О.В.,
Белуосов В.В.* 219
- 9.35. РАЗРАБОТКА ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМЫХ
САМОСОБИРАЮЩИХСЯ БЕЛКОВЫХ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ
ИНКАПСУЛИНА ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ К HER2-
ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ РАКОВЫМ КЛЕТКАМ
Обозина А.С., Зверева С.Д., Шипунова В.О. 220
- 9.36. ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ
МОРСКИХ ДИНОФЛАГЕЛЛЯТ *Prorocentrum cordatum*, КАК ОСНОВЫ
ДЛЯ ДИЗАЙНА НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
ЭФФЕКТИВНОГО КОНТРОЛЯ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ОПУХОЛЕВЫХ
КЛЕТОК
Печковская С.А., Филатова Н.А., Князев Н.А. 221
- 9.37. МЕХАНИЗМ РАЗВИТИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ В
КЛЕТКАХ ПАЦИЕНТОВ С ДИАГНОЗОМ "ЭНДОМЕТРИОЗ"
Погонялова М.Ю., Попов Д.Ю., Микенькина М.А., Уколова П.А. 222
- 9.38. СОЗДАНИЕ МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ
МЕХАНИЗМОВ ПАТОГЕНЕЗА БУЛЛЕЗНОГО ЭПИДЕРМОЛИЗА
ПРОСТОГО ТИПА (БЭП ИЛИ EBS) И ПОИСКА СРЕДСТВ
НАПРАВЛЕННОЙ ТЕРАПИИ
Подмосковников Г.С., Гурская Н.Г. 223

| | | |
|-------|--|-----|
| 9.39. | СРАВНЕНИЕ АДСОРБЦИИ РАСТВОРИМЫХ АНАЛИТОВ НА ЭЛЕКТРОФОРМОВАННЫЕ МЕМБРАНЫ ПРИ СВОБОДНОЙ ДИФфуЗИИ И ПРИ НАПРАВЛЕННОМ ПЕРЕНОСЕ <i>Прусаков К.А., Сидорова А.Е., Маслакова А.А., Павлова Е.Р., Багров Д.В.</i> | 224 |
| 9.40. | ДЛИННАЯ НЕКОДИРУЮЩАЯ РНК NEAT1_1 ВЛИЯЕТ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК НЕЙРОНАЛЬНЫХ КУЛЬТУР ПРИ СТРЕССЕ <i>Пукаева Н.Е., Овчинников Р.К., Кухарский М.С.</i> | 225 |
| 9.41. | РАЗРАБОТКА КРИТЕРИЕВ ДЛЯ ВЕРИФИКАЦИИ ХИМЕРНЫХ ТРАНСКРИПТОВ, ОБНАРУЖЕННЫХ В ХОДЕ АНАЛИЗА ДАННЫХ РНК-СЕКВЕНИРОВАНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ <i>Рабушко Е.Н., Сорокин М.И., Сунцова М.В., Бuzдин А.А.</i> | 226 |
| 9.42. | ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ, АКТИВИРУЕМЫХ ПРОЛИФЕРАТОРОМ ПЕРОКСИСОМ В МОЗГЕ КРЫС И ЭФФЕКТЫ ИХ АГОНИСТОВ В ЛИТИЙ-ПИЛОКАРПИНОВОЙ МОДЕЛИ ЭПИЛЕПСИИ <i>Рогинская А.И., Коваленко А.А., Демина А.В., Зубарева О.Е.</i> | 227 |
| 9.43. | ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОНУТРИЕНТОВ, ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ В ГЕЛЕОБРАЗОВАТЕЛИ НА ОСНОВЕ ПОЛИСАХАРИДОВ ВОДОРΟΣЛЕЙ <i>Рыбчинская Э.Е.</i> | 228 |
| 9.44. | КОНФОРМАЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГЕМОГЛОБИНА ПРИ ПАТОГЕНЕЗЕ ИДИОПАТИЧЕСКОЙ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ <i>Слатинская О.В., Аллахвердиев Э.С., Мартынюк Т.В., Родненков О.В., Максимов Г.В.</i> | 229 |
| 9.45. | СИСТЕМА ГУАНИЛИНА/УРОГУАНИЛИНА КИШЕЧНИКА И ПОЧКИ САМОК КРЫС: ВЛИЯНИЕ ХОЛЕСТАЗА <i>Снигирева Е.Д., Мингалёва Н.С., Балакина Т.А., Смирнова О.В.</i> | 230 |
| 9.46. | ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНДЕКСА АВИДНОСТИ АУТОАНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ ТКАНИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ МУЛЬТИПЛЕКСНОГО АНАЛИЗА НА ОСНОВЕ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО ГИДРОГЕЛЕВОГО БИОЧИПА <i>Соколова В.В.</i> | 231 |
| 9.47. | SR2+-ЗАМЕЩЕННЫЙ ОКТАКАЛЬЦИЙФОСФАТ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ МАТЕРИАЛ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ <i>Султыгова А.Р., Минайчев В.В., Кобякова М.И., Тетерина А.Ю., Фадеева И.С.</i> | 232 |
| 9.48. | ВЛИЯНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ ПОКРЫТИЙ НАНОЧАСТИЦ НА ГЛУБИНУ ИХ ПРОНИКНОВЕНИЯ В СОЛИДНЫЕ ОПУХОЛИ МЫШЕЙ <i>Терёшина Е.Д., Колесникова О.А., Штупунова В.О.</i> | 233 |
| 9.49. | ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОК В БИОСЕНСОРАХ, ОСНОВАННЫХ НА ГКР-ЭФФЕКТЕ <i>Тихонова Д.С., Кукушкин В.И., Аралов А.В., Коршун В.А., Завьялова Е.Г.</i> | 234 |

| | | |
|-------|--|-----|
| 9.50. | СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КАТИОННЫХ ПОРФИРИНОВ ДЛЯ аФДТ <i>Усанёв А.Ю., Савельева И.О., Шмиголь Т.А., Жданова К.А., Брагина Н.А.</i> | 235 |
| 9.51. | ЭФФЕКТЫ ТКАНЕВОГО АКТИВАТОРА ПЛАЗМИНОГЕНА И ИОНОВ ЛИТИЯ НА ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ <i>Федулова К.С., Бабенко В.А., Плотников Е.Ю.</i> | 236 |
| 9.52. | ЭРИТРОЦИТАРНАЯ БЛОКАДА ФАГОЦИТОВ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ ФАРМАКОКИНЕТИКИ НАНОЧАСТИЦ <i>Чикалкин Н.С., Миркасымов А.Б., Деев С.М.</i> | 237 |
| 9.53. | ИССЛЕДОВАНИЯ ОКСИГЕНАЦИИ КРОВИ СОСУДОВ И РЕДОКС-СОСТОЯНИЯ МИТОХОНДРИЙ АСТРОЦИТОВ НЕОКОРТЕКСА МЫШЕЙ <i>IN VIVO</i> ПРИ ПОМОЩИ МИКРОСПЕКТРОМЕТРИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ <i>Шестопалова М.С., Тяглик А.Б., Федотова А.А., Морозова К.И., Залыгин А.В., Браже Н.А., Олейников В.А., Семьянов А.В.</i> | 238 |
| 9.54. | РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ПРЕТАРГЕТИНГА ДЛЯ ТЕРАПИИ ЕрСАМ-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ <i>Шилова М.В., Прошкина Г.М., Шрамова Е.И., Деев С.М.</i> | 239 |
| 9.55. | ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ОНКОТЕРАНОСТИКИ <i>Шипунова В.О.</i> | 240 |
| 9.56. | ДИНАМИКА ИЗМЕНЧИВОСТИ НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНОВ SARS-CoV-2, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В КАЧЕСТВЕ МИШЕНЕЙ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ <i>Ширшиков Ф.В., Беспятых Ю.А.</i> | 241 |
| 9.57. | СТРУКТУРНЫЕ ИЗОМЕРЫ КОРИЧНЫХ ГИДРОКСАМОВЫХ КИСЛОТ БЛОКИРУЮТ РЕПЛИКАЦИЮ ВГС ПО РАЗНЫМ МЕХАНИЗМАМ <i>Щербакова А.С., Кондукторов К.А., Кочетков С.Н., Козлов М.В.</i> ... | 242 |
| 9.58. | ПОИСК БИОМАРКЕРОВ ДЛЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ОСТРОГО РЕСПИРАТОРНОГО ДИСТРЕСС-СИНДРОМА ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ПРОТЕОМА БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОГО ЛАВАЖА <i>Юдина Н.С., Пугач В.А., Тюнин М.А.</i> | 243 |
| 9.59. | ПОЛИМЕРНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ НАЦЕЛИВАНИЯ НА КЛЕТКИ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ В ОПУХОЛИ <i>Юрьева А.М., Шипунова В.О.</i> | 244 |
| 9.60. | ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО КОМПЛЕКСА БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОКАЛИНА С ХРОМОФОРМ (DiV3) <i>Горячева Е.А., Артемьев И.В., Ручкин Д.А., Плетнева Н.В., Плетнев В.З.</i> | 245 |
| | АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ | 246 |
| | СОДЕРЖАНИЕ | 256 |