

**Министерство науки и высшего образования
Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Государственный научный центр Российской Федерации
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
Российское общество биохимиков и молекулярных
биологов**

***К 90-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ АКАДЕМИКА
ЮРИЯ АНАТОЛЬЕВИЧА ОВЧИННИКОВА***

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

Москва, 10-13 февраля 2025 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. 16,9. Тираж 70 экз.

© Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Государственный научный центр Российской Федерации
Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, 2025 г.

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

СЕКЦИЯ 1

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ПЕПТИДОВ И БЕЛКОВ. БИОКАТАЛИЗ

1.1. СРАВНЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ СТРУКТУР ЗАЩИТНЫХ ПЕПТИДОВ РАСТЕНИЙ - АЛЬФА-ХАРПИНИНОВ - КАК ОСНОВА ВЫЯВЛЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ДЕТЕРМИНАНТ

Ахмедзянов М.А.¹, Рогожин Е.А.²

¹Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный

²ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
akhmedzianov.ma@phystech.edu

Ввиду того, что идёт постоянная борьба между природными антимикробными соединениями и адаптацией патогенных организмов, существует постоянная необходимость поиска новых активных молекул. В качестве таких веществ можно предложить антимикробные пептиды (АМП). Они синтезируются многими организмами, в том числе и растениями. АМП представляют собой так называемый "альфа-харпининовый" мотив, в котором два альфа-спиральных участка, соединенных бета-поворотом (петлевым участком). Для проведения рационального дизайна таких молекул с последующим конструированием структур с необходимыми свойствами необходимо обнаружить, какой сайт даёт исковую биологическую активность. По этой причине был проведен анализ первичных структур ряда природных пептидов, выделенных ранее.

"Альфа-харпининовый" мотив представляет собой аминокислотную последовательность $\dots\text{ххСхххСхх}\dots\text{ххСхххСхх}\dots$ (где х - любой аминокислотный остаток). Предполагается, что реализация активности альфа-харпининов непосредственно связана с аминокислотными остатками, локализованными в петлевом участке.

Для предсказания функционального сайта нами было сделано два варианта выравнивания: между 2 и 3 остатками цистеина, и в рамках всей последовательности. Получив соответствующие филогенетические деревья и сопоставив их с известной активностью, можно заключить, что в структуре петлевого домена консервативными являются следующие аминокислотные остатки: 2 аргинина в 7 и 8 положении и глутамин в 16 положении (относительно альфа-харпининового мотива EcAMP1). Таким образом, консенсусная последовательность будет выглядеть следующим образом: $\text{СХХХСХRХR}\dots\text{ХQХСХХХС}$. На основании проведенного филогенетического анализа древа все анализируемые пептиды были разбиты на 2 клады. Однако древо, построенное по всей последовательности, имеет более длинные расстояния, так как АМП данного семейства свойственна низкая степень гомологии. Следовательно, можно заключить, что наличие в петлевом участке альфа-харпининов одного или двух остатков аргинина является ключевым фактором, связанным с биологической активностью данных молекул (антимикробной, трипсин-ингибирующей и рибосоминактивирующей).

1.2. БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ЛЮЦИФЕРАЗЫ СВЕТЛЯЧКА: МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ ФОСФОРЕСЦЕНЦИИ

Блинова А.Р.^{1,2}, Григоренко Б.Л.^{1,2}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

²Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва
blinova.lcc@gmail.com

Биолюминесценция люциферазы светлячка представляет собой вид хемилюминесценции, основанный на реакции между люциферином и кислородом. Это явление широко используется в биотехнологии и биомедицине. На сегодняшний день люцифераза светлячка (FLuc) является наиболее экспериментально и теоретически изученной биолюминесцентной системой. Однако, несмотря на многочисленные исследования в этой области, полный механизм биолюминесценции для FLuc не установлен.

Согласно общепринятой схеме каталитическая активность FLuc заключается в трехстадийном процессе: 1) реакция между D-люциферином и АТФ с образованием люциферил аденилата и его последующее депротонирование; 2) окисление депротонированного интермедиата до диоксетанона; 3) разложение диоксетанона, ведущее к оксилюциферину, молекуле-эмиттеру в биолюминесценции FLuc.

Нами проведено детальное описание всех трех стадий молекулярного механизма биолюминесценции FLuc методами классической молекулярной динамики, квантовой химии и комбинированным методом квантовой механики/молекулярной механики. Построена модель фермент-субстратного комплекса люциферин-АТФ-FLuc, структуру которого не удалось получить методом РСА ввиду высокой реакционной способности. Показано, что аденилирование люциферина происходит по ассоциативному механизму, а акцепторами протона при дальнейшем депротонировании могут служить His244 или пиррофосфат, образующийся в ходе аденилирования. Депротонированный люциферил аденилат является донором электрона для молекулы кислорода, тем самым активируя ее; получающийся супероксид может реагировать с люциферином с образованием как диоксетанона, так и других органических перекисей или пероксида водорода. Разложение диоксетанона приводит к фосфоресценции.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова при финансовой поддержке РФН (проект № 22-13-00012).

1.3. ОСНОВНОЙ БЕЛОК МИЕЛИНА РЕГУЛИРУЕТ ТРАНСПОРТ ИНТЕГРАЛЬНОГО ТРАНСМЕМБРАННОГО БЕЛКА 2В

Ельмеева О.С.¹, Смирнова Е.В.², Ракитина Т.В.², Кудряева А.А.², Саратов Г.А.², Белогуров А.А.²

¹Институт тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова, МИРЭА, Москва

²ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
elmeeva.o.s@mail.ru

Основной белок миелина (МВР) является важным структурным белком в центральной нервной системе, где он поддерживает плотную многослойную сборку миелиновой оболочки, покрывающей аксоны. Внутренняя неупорядоченность МВР обуславливает его многофункциональность.

Ранее мы показали, что МВР взаимодействует с мембраноассоциированными белками, включая интегральный трансмембранный белок 2В (ITM2В или Bri2), который ассоциирован с наследственными деменциями (Smirnova et al. 2022). Молекулярная динамика комплекса МВР-Bri2 показала, что МВР охватывает существенную часть эктодомена Bri2, предположительно включая сайт расщепления фурина, в то время как поверхность домена BRICHOS, отвечающего за мультимеризацию и активацию функции шаперона высокомолекулярного олигомера Bri2, остается незатронутой (Smirnova et al. 2024).

В данной работе были получены конструкции для экспрессии различных вариантов МВР и Bri2. Совместная экспрессия различных форм МВР с Bri2, его зрелой формой, лишённой С-концевого фрагмента, и мутантами, ассоциированными с деменциями, подтвердила результаты, полученные *in silico*. МВР в клетках млекопитающих снижает посттрансляционный процессинг Bri2 путем снижения секреции его С-концевого пептида, образующегося вследствие катализируемого фурином протеолиза. Кроме того, мы показали, что совместная экспрессия МВР и Bri2 также вызывает изменение в клеточной локализации Bri2, подавляя его перенос на мембрану независимо от МВР-опосредованного подавления высвобождения С-концевого пептида Bri2.

Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ № 24-74-10107.

1.4. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МАЛЫХ БЕЛКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА ЧЕЛОВЕКА С АДАПТЕРНЫМ БЕЛКОМ BAG3

Замотина М.А., Муранова Л.К., Заболотский А.И., Гусев Н.Б.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,

Москва

zamotina.maria00@gmail.com

Малые белки теплового шока (sHsp или HspB) - это семейство молекулярных шаперонов, которые играют важную роль в предотвращении агрегации частично денатурированных белковых субстратов, образующихся в клетке вследствие стресса. Кроме того, sHsp способны взаимодействовать с различными белками-партнерами, одним из которых является адаптерный белок BAG3. Этот белок обеспечивает обмен нуклеотидов в активном центре белков семейства Hsp70 и участвует в формировании комплекса этих белков с денатурированными субстратами, малыми белками теплового шока и дополнительными белками, участниками процесса шаперон-зависимой избирательной автофагии (CASA).

В связи с тем, что данные литературы о взаимодействии sHsp и BAG3 достаточно противоречивы, целью работы было систематическое исследование взаимодействия между представителями семейства sHsp, потенциальными белками-партнерами BAG3 по данным литературы, и их α -кристаллиновых доменов (ACD) с BAG3 и его N-концевым фрагментом, формирующим, по данным литературы, участки связывания с sHsp (IPV-IPV). Полноразмерные белки и их фрагменты, использованные в работе, были экспрессированы в штаммах *E.coli* и очищены методами ионообменной хроматографии и гель-фильтрации. Белок-белковые взаимодействия анализировали методами гель-фильтрации, нативного электрофореза, вестерн-блоттинга и химического "сшивания".

Из исследованных полноразмерных малых белков теплового шока (HspB1, HspB6, HspB7, HspB8) с BAG3 наиболее эффективно взаимодействовал HspB8, менее прочные комплексы образовывал HspB6, а HspB7 и фосфоимитирующая мутантная форма HspB1 не были способны взаимодействовать с BAG3. ACD всех анализированных белков (за исключением HspB7) взаимодействовали с BAG3 с разной эффективностью и при этом ACD B8 был наиболее эффективным партнером BAG3. IPV-IPV фрагмент BAG3 также наиболее прочно взаимодействовал с полноразмерным HspB8 и его ACD. Таким образом, наиболее эффективным партнером BAG3 является HspB8. Это косвенно подтверждает, что по данным опытов по химическому "сшиванию", только этот малый белок теплового шока способен образовывать комплекс BAG3/HspB8 со стехиометрией 1:2, в то время как остальные sHsp образуют с BAG3 преимущественно эквимолярные комплексы.

1.5. НЕ ОБЛАДАЮЩАЯ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТЬЮ СУБЪЕДИНИЦА НDP-1_п ФОСФОЛИПАЗЫ A2 НDP-1 НЕ ВЛИЯЕТ НА ГЕМОДИНАМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРЫС ПРИ ВНУТРИВЕННОМ ВВЕДЕНИИ

Исмаилова А.М.^{1,2}, Северюхина М.С.^{1,2}, Дьяченко И.А.^{1,2}, Уткин Ю.Н.¹

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

²Филиал ГНЦ РФ Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущино
ismailowa.a.m@yandex.ru

НDP-1 - гетеродимерная фосфолипаза A2, выделенная из яда гадюки Никольского и способная влиять на нервно-мышечную передачу. НDP-1 состоит из двух нековалентно связанных субъединиц - НDP-1P и НDP-1_п. Субъединица НDP-1_п не обладает фосфолипазной активностью, поскольку имеет замену в активном центре. Субъединица НDP-1P проявляет липолитическую активность.

Цель данного исследования: оценить воздействие внутривенного введения НDP-1 и субъединицы НDP-1_п на гемодинамические параметры крыс.

Исследование выполнялось на самцах крыс Sprague-Dawley с массой тела 240-290 г, с исходным значением артериального давления (АД) в пределах 100-140 мм.рт.ст. Были сформированы экспериментальные группы (n=6): контрольная группа (физиологический раствор), группы НDP-1 с введением 250 мкг/кг и 400 мкг/кг, НDP-1_п - 250 мкг/кг и НDP-1_п - 400 мкг/кг. Животным в состоянии наркоза (Телазол 4 мг/кг и Ксилазин 12 мг/кг внутримышечно) имплантировали катетеры в общую сонную артерию и яремную вену. Исследуемые вещества и физиологический раствор вводили через внутривенный катетер в объеме 1 мл/кг. Для регистрации АД и частоты сердечных сокращений (ЧСС) через артериальный катетер животное подключали к установке Powerlab ML125. Параметры АД и ЧСС регистрировались непрерывно на протяжении всего эксперимента (90 минут), вещества вводились после записи базовых значений в течение 15 минут.

При введении НDP-1 проявляется кратковременный гипотензивный эффект сразу после введения, затем после 25 минуты и до конца регистрации, в группе 250 мг/кг НDP-1 - на 23%, в группе 400 мг/кг НDP-1 - на 33%. В группах 250 мг/кг НDP-1_п и 400 мг/кг НDP-1_п статистически значимого падения АД не наблюдалось.

Значения ЧСС во всех опытных группах статистически не отличались от контроля.

По итогам исследования выявлена способность гетеродимерной фосфолипазы A2 НDP-1 оказывать гипотензивное воздействие на крыс. Результаты нашей работы показывают, что ферментативно не активная субъединица НDP-1_п не влияет на гемодинамические параметры крыс.

1.6. ПОИСК АМИНОКИСЛОТНЫХ ОСТАТКОВ ВОВЛЕЧЕННЫХ В рН-ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ РЕЦЕПТОРНОЙ ТИРОЗИНКИНАЗЫ РЕЦЕПТОРА, ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРУ ИНСУЛИНА (IRR)

Кривошеина Д.А.¹, Гавриленкова А.А.^{1,2}, Пяткина В.А.¹, Бочаров Э.В.^{1,2}, Деев И.Е.²

¹Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный

²ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
krivosheina.da@phystech.edu

Рецептор, подобный рецептору инсулина (IRR) - это рецепторная тирозинкиназа, которая активируется внеклеточным щелочным рН. В лаборатории клеточной биологии рецепторов ИБХ РАН было показано, что IRR является внеклеточным щелочным сенсором, участвующим в регуляции секреции бикарбоната почками. IRR состоит из трех частей: внеклеточная часть, трансмембранный домен, цитоплазматический домен с тирозинкиназной активностью. На данный момент нет точного понимания о детальном механизме активации этого рецептора.

Для изучения роли внеклеточного домена в активации рецептора IRR нами были получены мутантные формы рецептора, содержащие замены (R47, K143 и S516 на аланины) в эктодомене. Клетки линии HEK293 трансфицировали плазмидными конструкциями, кодирующими мутантной конструкцией IRR с этими заменами. Затем клетки инкубировали в среде F-12 с добавлением Tris-HCl pH=7,4-9,4.

В дальнейшем нам предстоит анализ клеточных лизатов методом Вестерн-блота для того, чтобы убедиться, что мутантная форма IRR не способна активироваться при pH=9,4, в отличие от рецептора дикого типа.

Мы предполагаем, что полученные нами результаты внесут ясность и понимание в механизмы активации рецептора, подобного рецептору инсулина.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 23-25-00298.

1.7. КОМПЕНСАТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ МЕЖМОЛЕКУЛЯРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В ПОРОВОМ ДОМЕНЕ ИОННЫХ КАНАЛОВ TRPV В ОСНОВНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯХ

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

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

²Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

³НИУ "Высшая школа экономики", Москва

⁴Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный
ivanlazarev09042003@gmail.com

Ионные каналы подсемейства TRPV - важные участники механизмов температурной чувствительности, ноцицепции и гомеостаза Ca²⁺. Экспериментальные структуры TRPV позволили выделить три основных функциональных состояния ионопроводящих пор, общие для всех каналов данного подсемейства: α -закрытое, π -закрытое и π -открытое [1]. В данной работе мы исследовали каналы TRPV1, TRPV3 и TRPV6, используя молекулярно-динамическое моделирование и метод "Динамического молекулярного портретирования" [1], для характеристики структурных особенностей пор каналов в различных состояниях. Были рассмотрены фрагменты поробразующих α -спиралей S6 и S5 в области гидрофобных активационных ворот каналов на предмет внутри- и межспиральных взаимодействий (h-связей, комплементарности контактов гидрофобных и гидрофильных участков) и взаимодействий белок-вода.

Переход из α -закрытого в π -состояния сопровождается возникновением π -сегмента в центральной части S6, опосредованной потерей двух внутриспиральных h-связей, которая компенсируется возникновением новых внутриспиральных связей в нижней части S6. Закрытое состояние отличается комплементарными гидрофобными контактами S6-S6 в области дегидратированных ворот поры. При переходе в π -конформацию комплементарность контактов S6-S6 снижается, но возрастает комплементарность между S6 и S5. Изменение гидратации гидрофобных ворот при переходах между состояниями влияет на выгодность взаимодействий белок-вода, антикоррелируя с контактами S6-S6. Проведённый анализ выявил тонкие компенсаторные механизмы межмолекулярных взаимодействий в поре TRPV, что предположительно обеспечивает переходы TRPV между основными состояниями без значительных энергетических барьеров.

Работа поддержана грантом РФФ № 23-14-00313.

Литература

1. Trofimov Y.A. et al. Commun. Chem. 7, 119 (2024).

1.8. ИЗМЕРЕНИЕ КОНСТАНТЫ ДИССОЦИАЦИИ КОМПЛЕКСА АНТИГЕН-АНТИТЕЛО

Логвиненко Е.А.

Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный
logvinenko.ea@phystech.edu

Иммуноглобулин Е (IgE) человека является основным маркером аллергической патологии в организме человека. Один из иммунохимических методов обнаружения аллерген-специфических IgE в крови человека - метод флуоресцирующих антител (МФА) [1], при котором IgE, выступающее в роли антигена, детектируется в крови человека при помощи антител, конъюгированных с флуоресцентной меткой. Для наиболее эффективной работы скрининговых систем, основанных на МФА, требуется провести анализ аффинности данного комплекса антиген-антитело и выбрать антитело, дающее наибольшее значение [2].

Была измерена константа диссоциации комплекса антиген-антитело, образованного IgE человека и флуоресцентномеченым моноклональным иммуноглобулином G (IgG) мыши, представленным в различных вариантах: клоны 4F4cc (OriGene Technologies, Inc., США), IEF6 (ОАО ВНИЦМДЛ, Россия) и ICO-539 (ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина" Минздрава России, Россия). Для изучения способности связывания моноклональных IgG мыши с IgE человека были использованы методы микроскопического термофореза (МСТ) [3] и иммуноферментного анализа (ИФА) [4]. При проведении анализов с помощью методики ИФА дополнительно использовали антивидовые антитела козы против константной части иммуноглобулина мыши конъюгированные с пероксидазой хрена, для проведения хромогенной реакции и возможности детекции комплексов с помощью ИФА. Проведённые эксперименты показали сходимые результаты, полученные с помощью указанных выше методов, что позволило определить, какое из рассматриваемых антител обладает наибольшей аффинностью к IgE человека.

Литература

1. Coons A.H. Fluorescent antibody methods // Gen. Cytochem. Methods. 1958. V. 1. P. 399-422.
2. Kim T.E. [et al.]. Quantitative measurement of serum allergen-specific IgE on protein chip // Exp. Mol. Med. 2002. V. 34(2). P. 152-158.
3. Linke P. [et al.]. An automated microscale thermophoresis screening approach for fragment-based lead discovery // J. Biomol. Screening. 2016. V. 21(4). P. 414-421.
4. Aydin S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA // Peptides. 2015. V. 72. P. 4-15. DOI: 10.1016/j.peptides.2015.04.012.

1.9. ОТ МОЛЕКУЛЫ К МИШЕНИ: АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ ПОДХОД В БОРЬБЕ С ТУБЕРКУЛЁЗОМ НА ПРИМЕРЕ ОДНОЙ ИСТОРИИ

Лубова К.¹, Хабян Э.², Хариту В.², Лобанов В.³, Спир А.², Макаров В.³, Гуськов А.¹, Биттер В.², Слотбом Д.¹

¹Университет Гронингена, группа мембранной энзимологии, Гронинген, Нидерланды

²Амстердамский Университетский Медицинский Центр, группа медицинской микробиологии и профилактики инфекций, Амстердам, Нидерланды

³ФИЦ Биотехнологии РАН, лаборатория биомедицинской химии, Москва, Россия

k.lubova@rug.nl

Одной из ключевых проблем при разработке антимикобактериальных препаратов является обеспечение их доставки через практически непроницаемую клеточную оболочку. Низкая проницаемость клеточной стенки зачастую сводит на нет эффективность широко применяемого подхода "мишень-препарат". Поэтому мы решили использовать обратный подход "препарат-мишень", при котором сначала в скрининге определяются активные соединения, а идентификация мишени препарата проводится на последующих этапах. В условиях роста числа штаммов, устойчивых к антибиотикам, крайне важно, чтобы новые соединения воздействовали на ранее неизученные мишени. Мы провели скрининг библиотеки соединений на основе бензотиазольного скелета на *Mycobacterium marinum*, модельном организме для *M. tuberculosis* и обнаружили несколько активных молекул. Соединение ВТ-37 продемонстрировало синергизм с антибиотиками и активность в моделях инфекции *M. marinum* и *M. tuberculosis*. Для выявления мишени ВТ-37 мы получили спонтанно устойчивые мутанты *M. marinum* в присутствии сублетальной концентрации ВТ-37. Все они имели идентичную мутацию в гене *mmar_0407*. Ген *mmar_0407* кодирует небольшой белок MMAR_0407, консервативный среди микобактерий. Мы установили структуру ортолога MMAR_0407 в *M. tuberculosis* - белка ТВ 18.5 - в комплексе с ВТ-37, что подтвердило прямое взаимодействие между белком и лигандом. Кроме того, было показано, что ТВ 18.5 влияет на проницаемость клеточной стенки микобактерий и, возможно, участвует в липидном обмене, что приближает нас к пониманию его функциональной роли.

1.10. СОЗДАНИЕ ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНАЛОГОВ ЛАНТИПЕПТИДОВ

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

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

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

mirzoevanis@yandex.ru

Многолетнее использование антимикробных препаратов привело человечество на порог кризиса антибиотикорезистентности. В связи с этим особенно остро стоит вопрос поиска и разработки новых соединений, обладающих антимикробной активностью. В последнее время особое внимание в области разработки антибиотиков уделяется антимикробным пептидам (АМП). Особый интерес у исследователей вызывают антимикробные пептиды со сложной структурой и посттрансляционными модификациями, такие как лантипептиды. Лантипептиды - это класс рибосомально синтезированных и посттрансляционно-модифицированных пептидов, обладающих выраженной антимикробной активностью. Классификация лантипептидов позволяет выделить 5 классов, основываясь на различиях в строении ферментов, осуществляющих посттрансляционную модификацию. Ключевой особенностью лантипептидов является наличие в их составе неканонических аминокислот лантионина (Lan) и метил-лантионина (MeLan), способных формировать характерные структуры - лантиониновые связи. Целью данной работы было получение рекомбинантных аналогов лантипептидов I, II, III и IV классов в гетерологическом продуценте *Escherichia coli*. В качестве фермента, осуществляющего посттрансляционную модификацию, использовалась лантионин-синтетаза III класса AncKC. В ходе исследования была получена генетическая конструкция, объединяющая в единой рамке считывания ген лантионин-синтетазы и пептида-прекурсора. В результате экспрессии плазмидных генов осуществлялась одновременная наработка лантионин-синтетазы и пептидов-прекурсоров, в результате чего происходило внесение модификаций *in vivo*. Анализ профиля модификаций осуществлялся путем проведения масс-спектрометрического анализа очищенных рекомбинантных пептидов. Полученные результаты указывают на успешное протекание реакции модификации и могут быть использованы для получения биологически активных рекомбинантных пептидных препаратов с улучшенными свойствами.

Исследование выполнено при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2024-536.

1.11. ВЛИЯНИЕ СРЕДЫ НА ФОТОФИЗИКУ LOV-ДОМЕНА ИЗ ТЕРМОФИЛЬНОЙ ГАЛОАРХЕИ

Натаров И.И., Семенов О.Ю., Ремеева А.А., Гуцин И.Ю.

Центр исследований молекулярных механизмов старения и возрастных заболеваний ЛФИ МФТИ, Долгопрудный
natarov.ii@phystech.edu

LOV (от англ. Light Oxygen Voltage - Свет Кислород Напряжение) домены - это сенсорные модули светочувствительных белков, широко распространенные во всех трех доменах жизни. Флуоресцентные свойства этих белков позволяют использовать их в качестве генетически кодируемых молекулярных инструментов в оптогенетике [1] и микроскопии [2], в особенности, благодаря их не зависящей от присутствия кислорода в среде флуоресценции, в качестве альтернативы зеленому флуоресцентному белку в анаэробных биологических системах.

Архейные LOV-домены менее изучены, чем их бактериальные и эукариотические гомологи [3]. В этой работе мы исследовали ранее не охарактеризованный LOV-домен, получивший название hsuLOV, из белка активатора бактериоопсина термофильной галоархеи *Halanaeroarchaeum sulfurireducens*. Мы успешно клонировали, гетерологически экспрессировали и очистили этот белок. Однако при оверэкспрессии в *E. coli* hsuLOV связывал лишь небольшое количество флавинового хромофора. Поэтому мы инкубировали очищенный белок с избытком флавиномононуклеотида в различных условиях и выявили зависимость уровня загрузки hsuLOV хромофором от концентрации хлорида натрия.

Кроме того, мы проверили биологическую активность hsuLOV в буферных растворах с различными концентрациями соли. С помощью время-разрешенной абсорбционной спектроскопии мы подтвердили, что передача сигнала в hsuLOV может происходить за счет формирования восстановленных состояний флавинового хромофора в соответствии с механизмом, недавно описанным [4] для других LOV-доменов, не содержащих консервативный цистеин в активном сайте белка.

Литература

1. Blue-light receptors for optogenetics / A. Losi, K. H. Gardner, A. Möglich // Chemical reviews. - 2018. - Vol. 118.
2. LOV-based reporters for fluorescence imaging / A. M. Buckley et al. // Current opinion in chemical biology. - 2015. - Vol. 27.
3. Archaeal LOV domains from Lake Diamante: first functional characterization of an halo-adapted photoreceptor / Valle L. et al. - 2023.
4. Signal transduction in light-oxygen-voltage receptors lacking the adduct-forming cysteine residue / Yee E. F. et al. // Nature communications. - 2015. - Vol. 6.

1.12. ВЛИЯНИЕ ПЕРВОЙ АМИНОКИСЛОТЫ ХРОМОФОРНОЙ ТРИАДЫ НА ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СИНИХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ БЕЛКОВ С ИЗБРАННЫМИ ХРОМОФОРНЫМИ КОМПОЗИЦИЯМИ

Никитин В.А.^{1,2}, Ручкин Д.А.¹, Макарюк А.М.¹, Мамонтова А.В.¹, Богданов А.М.¹

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

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва
dfolt8998y@mail.ru

Продолжительность времени жизни флуоресценции (наряду с молекулярной яркостью, положениями пиков возбуждения и эмиссии, способностью к фотоконверсии и другими), является одним из ключевых свойств флуоресцентных белков (FP), применяемых в различных методах визуализации. Так, способность отличить сигналы FP с различными временами жизни, но близкими спектральными характеристиками, лежит в основе метода FLIM (Fluorescent Lifetime Imaging Microscopy). На данный момент проблема направленного влияния на продолжительность времени жизни флуоресценции остается актуальной.

Нами был получен набор мутантов TagBFP и нескольких родственных ему синих флуоресцентных белков, содержащих в положении 64 (первое положение хромофор-образующей триады) Trp, Tug, Phe, His и Leu. Отобранные флуоресцентные варианты обладали хромофорными композициями LYG, FYG, NYG и были спектрально охарактеризованы. Спектральные положения пиков возбуждения и эмиссии флуоресценции у мутантных вариантов отличались от таковых у родительских белков на 10 нм или меньше. Мы измерили кинетику затухания флуоресценции этих вариантов при коррелированном по времени подсчете одиночных фотонов (TCSPC) и обнаружили значительные различия в продолжительностях времен жизни флуоресценции мутантных вариантов относительно родительских белков.

Таким образом, было показано значительное влияние заместителя в положении 64 на продолжительность времени жизни флуоресценции в синих FP производных TagBFP.

Данная работа поддержана грантом РФФ № 23-24-00011.

1.13. ОБРАЗОВАНИЕ И СВОЙСТВА КОМПЛЕКСА ТИОЦИАНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ С ТИОРЕДОКСИН-ПОДОБНЫМ БЕЛКОМ ИЗ *Thiohalobacter thiocyanaticus*

Попкова А.Н., Шипков Н.С., Дергоусова Н.И., Тихонова Т.В., Попов В.О.

ФИЦ Биотехнологии РАН - Институт биохимии имени А.Н. Баха, Москва
sa5haw@yandex.ru

Тиоцианат - токсичное соединение, образующееся как в результате природных процессов, так и в результате деятельности человека. Существует два пути микробиологической деградации тиоцианата: карбонилсульфидный путь, катализируемый тиоцианатгидролазой, и цианатный, катализируемый тиоцианатдегидрогеназой. Тиоцианатдегидрогеназа была впервые выделена из галоалкалофильной сероокисляющей бактерии *Thioalkalivibrio paradoxus*, способной расти на тиоцианате как на единственном источнике энергии и азота.

Тиоцианатдегидрогеназа - медь-зависимый фермент, катализирующий реакцию окислительного разложения тиоцианата с образованием молекулярной серы, цианата и с переносом двух электронов на внешний акцептор. В активном центре фермента содержатся три иона меди, которые принимают участие в координации субстрата и катализе реакции. Гомологи тиоцианатдегидрогеназы из *Tv. paradoxus* (trTcDH) обнаружены у более чем 70 бактерий. Наше внимание привлекла тиоцианатдегидрогеназа из бактерии *Thiohalobacter thiocyanaticus* (ttTcDH) - одного из наиболее удаленных гомологов trTcDH (идентичность по аминокислотной последовательности 30%). Отличительной особенностью ttTcDH является наличие гена тиоредоксин-подобного белка (TLP) перед геном ttTcDH. TLP имеет характерный для тиоредоксинов фолд, однако у него отсутствует мотив CXXC, позволяющий проводить окислительно-восстановительные реакции. Для характеристики взаимодействия ttTcDH и TLP и установления роли TLP в механизме каталитического действия ttTcDH были получены рекомбинантные белки. В процессе исследования белков было показано, что свободная рекомбинантная ttTcDH не способна к встраиванию ионов меди и катализу реакции. Только инкубация ttTcDH с TLP и ионами меди позволяет получить каталитически активный фермент. Процесс сопровождается встраиванием ионов меди в активный центр ttTcDH и образованием каталитически активного комплекса ttTcDH-TLP. Образование комплекса показано методом гель-фильтрации. Проведена оптимизация процесса активации комплекса. При подборе оптимальных условий варьировались концентрации ионов меди, pH, концентрация TLP. Для каталитически активного комплекса определена зависимость скорости реакции от pH и измерены кинетические параметры реакции в pH-оптimumе.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № № 23-74-30004.

1.14. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ОСНОВНОГО АЛЛЕРГЕНА ПЫЛЬЦЫ ОЛЬХИ *Aln g 1* С СУРФАКТАНТНЫМ СЛОЕМ И ЭПИТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ ЛЕГКИХ

Потапов А.Е.^{1,2}, Мельникова Д.Н.^{1,2}, Овчинникова Т.В.^{1,2}, Богданов И.В.¹

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

²Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный
cool.goyan@yandex.ru

Аллергия является глобальной проблемой с постоянно увеличивающейся распространённостью. Уже в XXI веке по прогнозу ВОЗ данное заболевание может выйти на первое место по частоте встречаемости. Гомологи основного аллергена пыльцы березы *Bet v 1* являются липид-транспортирующими белками и главной причиной весеннего поллиноза, проявляющегося в виде ринита, конъюнктивита, иногда и астмы. Из-за перекрестной реактивности аллергенов у пациентов может возникать реакция на гомологичные белки из пыльцы и/или из пищевых продуктов. Несмотря на важность проблемы, на сегодняшний день вопрос о причинах возникновения аллергии и методах аллерген-специфической иммунотерапии изучен недостаточно.

Объектом данного исследования является основной аллерген пыльцы ольхи *Aln g 1*, который вызывает аллергические реакции различной степени тяжести. Нами были разработаны методы получения рекомбинантного *Aln g 1* и его мутантного аналога D27A/L30A с менее выраженными аллергизирующими свойствами. Экспрессия проводилась в клетках *E. coli* BL21(DE3). Для оценки влияния *Aln g 1* на эпителиальные клетки легких Calu-3 был использован метод $\Delta\Delta Cq$. При этом наблюдалась индукция синтеза про- и противовоспалительных цитокинов IL-33, TSLP, IL-1 β , IL-13, IL-8. Полученный результат свидетельствует, что *Aln g 1* является сенсibilизатором иммунной системы. Однако, остается неясным механизм индукции синтеза цитокинов гомологами *Bet v 1*. Вероятно, по аналогии с протеазными аллергенами, гомологи *Bet v 1* могут активировать рецепторы на поверхности эпителиальных клеток. С другой стороны, известно, что в модуляции цитокинового ответа может участвовать сурфактантный слой альвеол легких. Было показано, что рекомбинантный аллерген *Aln g 1* и его мутантный аналог D27A/L30A с 50% эффективностью разрушают липосомы, имитирующие по своему составу легочный сурфактант (DPPC/DOPC/DOPG/DOPE). Моделирование состава липосом позволило показать средство аллергена пыльцы ольхи *Aln g 1* и его мутантного аналога D27A/L30A к липидным компонентам легочного сурфактанта. Полученные данные создают основу для понимания молекулярного механизма, способствующего проникновению аллергенов в респираторный эпителий человека.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-75-10116; <https://rscf.ru/project/23-75-10116/>).

1.15. ВЛИЯНИЕ ХИМИЧЕСКИХ МОДИФИКАЦИЙ БЕРБЕРИНА НА АКТИВАЦИЮ РЕЦЕПТОРА ИНСУЛИНА

Пяткина В.А.^{1,2}, Кривошеина Д.А.², Гавриленкова А.А.^{2,3}, Хвостов М.В.⁴, Лузина О.А.⁴, Бочаров Э.В.^{2,3}, Деев И.Е.³

¹Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина, Москва

²Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный

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

⁴Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Новосибирск
snegykamoa@gmail.com

Берберин - алкалоид, выделенный из барбариса и обладающий множеством фармакологических свойств, что представляет большой интерес для исследователей. Текущие экспериментальные и клинические исследования выявили большой потенциал берберина в регуляции гомеостаза глюкозы и липидов, противоопухолевый и противовоспалительный эффекты. Механизм действия берберина затрагивает большой спектр биологических мишеней и при этом все еще недостаточно изучен.

Рецептор инсулина (IR) - трансмембранный рецептор, который активируется инсулином, и принадлежит к большому классу тирозинкиназных рецепторов. Его основная функция заключается в регуляции метаболизма, нарушения в механизме работы данного рецептора может привести к ряду клинических проявлений, в том числе сахарному диабету и онкологическим заболеваниям.

В Новосибирском институте органической химии им. Н.Н. Ворожцова были синтезированы 9-N производные берберина. Для того чтобы проверить влияние данных соединений на активацию IR, нами была проведена трансфекция конструкцией, содержащей ген IR. Через 2-е суток клетки обрабатывали исследуемыми веществами. Далее клетки лизировали. Клеточные лизаты анализировали методом вестерн-блота с антителами к фосфорилированной и общей форме рецептора. В результате было обнаружено, что производные под шифрами NV47, NV50, NV37 и сам берберин не приводили к активации рецептора инсулина. Производное берберина NV46 активировало рецептор инсулина, но в меньшей степени, чем природный лиганд.

Исходя из полученных данных, мы можем сделать вывод о том, что производное берберина NV46 является перспективным для дальнейших исследований и потенциального применения в медицине для лечения сахарного диабета.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 23-74-00024.

1.16. ПОИСК И АНАЛИЗ КАТАЛИТИЧЕСКИХ ЦЕНТРОВ БЕЛКА MALT1 НА ОСНОВАНИИ СТРУКТУРНО-ДИНАМИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ ВЫСОКОЙ ТОЧНОСТИ

Рошин К.Д.¹, Лесовой Д.М.¹, Бочаров Е.В.¹, Азбак Т.², Орехов В.И.³

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

²Шведский университет сельскохозяйственных наук, Швеция

³Гётеборгский университет, Швеция
engineinsock@gmail.com

Белок транслокации лимфомы слизисто-ассоциированной лимфоидной ткани 1 (MALT1) играет ключевую роль в сигнальном пути активации транскрипционного фактора (NF- κ B). Паракаспаза MALT1 участвует в активации лимфоцитов и других иммунных клеток, включая миелоидные клетки, тучные клетки и NK-клетки. MALT1 является одной из ключевых мишеней для иммуномодулирующих и противоопухолевых препаратов. Экспериментально было установлено, что активность MALT1 зависит от ионной силы: высокая ионная сила индуцирует активное состояние.

Все большую популярность набирают теоретические методы предсказания трехмерной структуры белка, такие как AlphaFold. Однако структуры белков, полученные с помощью таких методов, имеют существенный недостаток. Например, AlphaFold предсказывает структуры, не учитывая данные об ионной силе, температуре и pH раствора. Структуры MALT1, полученные посредством AlphaFold, обладают разными конформациями. Нашей целью было провести различие между структурами в активной и неактивной конформации в зависимости от ионной силы раствора, используя теоретические методы, верифицировать данные путем сравнения с данными ЯМР и предсказать расположение активных центров. Мы провели полноатомную молекулярную динамику для каждой из структур в различных условиях: при высокой ионной силе и при низкой ионной силе. Оценка стабильности белка в выбранных условиях показала, что конформации, близкие к X-gau, соответствуют неактивной конформации, а структуры, полученные теоретическим методом AlphaFold, близки к активной. При установлении стартовой конформации белка в неподходящих условиях раствора наблюдались конформационные переключения. Были спрогнозированы усредненные значения химических сдвигов для разных конформационных наборов. Сравнивая полученные теоретические модели с данными ЯМР о подвижности остатков и химических сдвигов, была проведена верификация. Были предсказаны конформации активных центров для активной и неактивной конформации в зависимости от ионной силы раствора.

В ходе исследования с помощью теоретических методов мы установили взаимосвязь между условиями и конформацией белка, провели верификацию данных и предсказали расположение активных центров. Полученные данные могут быть использованы для понимания активности активных центров, функциональности доменных движений и регуляции активности MALT1.

1.17. ОСНОВНОЙ БЕЛОК МИЕЛИНА НЕЙТРАЛИЗУЕТ ИНГИБИРОВАНИЕ АУТОФАГИИ, ВЫЗВАННОЕ БЕЛКОМ ORF3a ВИРУСА SARS-CoV-2

Саратов Г.А., Белозуров А.А., Кудряева А.А.

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

Ингибирование аутофагии является одним из признаков инфекции SARS-CoV-2. Известно, что один из белков вируса - ORF3a взаимодействует с компонентом VPS39 комплекса гомотипического клеточного слияния и сортировки белков (HOPS), предотвращая, таким образом, связывание ГТФазы RAB7 с HOPS, что приводит к ингибированию слияния аутофагосом с лизосомами. В этом исследовании мы изучили взаимодействие ключевого компонента миелиновой оболочки - основного белка миелина (MBP) с белком ORF3a вируса SARS-CoV-2 и влияние этого взаимодействия на аутофагию.

На клеточных линиях было показано, что при коэкспрессии MBP и ORF3a ингибирование аутофагии, вызванное ORF3a, снижается. Было обнаружено, что MBP может связываться с ORF3a и восстанавливать процесс аутофагии. Таким образом, MBP выступает в роли антагониста ORF3a и способствует нормализации внутриклеточных процессов. Важную роль в этом взаимодействии играет положительный заряд MBP: модифицированные формы MBP с уменьшенным зарядом утратили способность связываться с ORF3a и не оказывали влияния на аутофагию. Наши результаты показывают, что MBP может конкурировать с клеточным белком VPS39 за связывание с ORF3a, что приводит к освобождению VPS39 и восстановлению слияния аутофагосом с лизосомами.

Полученные нами данные свидетельствуют о защитной роли MBP, который поддерживает гомеостаз клеток в условиях инфекции SARS-CoV-2. Исходя из этого, процесс деиминирования MBP, часто наблюдаемый у пациентов с рассеянным склерозом (РС), может снижать способность MBP к взаимодействию с ORF3a, что, вероятно, ухудшает способность нервных клеток восстанавливать аутофагию и усиливает негативные последствия инфекции SARS-CoV-2. Таким образом, у пациентов с РС COVID-19 может протекать тяжелее, а постковидные симптомы, включая неврологические проявления, могут быть более выраженными.

Исследование выполнено в рамках гранта Российского научного фонда №24-74-10107.

1.18. ФЕРМЕНТАТИВНО АКТИВНАЯ СУБЪЕДИНИЦА ГЕТЕРОДИМЕРНОЙ ФОСФОЛИПАЗЫ A2 HDP-1 СНИЖАЕТ АРТЕРИАЛЬНОЕ ДАВЛЕНИЕ У КРЫС ПРИ ВНУТРИВЕННОМ ВВЕДЕНИИ

Северюхина М.С.^{1,2,3}, Исмаилова А.М.^{1,2}, Дьяченко И.А.^{1,2}, Уткин Ю.Н.¹

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

²Филиал ГНЦ РФ Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущино

³Пушинский филиал ФГБОУ ВО Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)
SeveryuchinaMS@yandex.ru

HDP-1 - одна из гетеродимерных фосфолипаз A2, выделенных из яда гадюки Никольской. HDP-1 состоит из двух нековалентно связанных субъединиц - HDP-1P и HDP-1In. Субъединица HDP-1P проявляет липолитическую активность, тогда как HDP-1In стабилизирует HDP-1P и изменяет ее биологическую активность. Целью исследования было оценить воздействие внутривенного введения HDP-1 и субъединицы HDP-1P на гемодинамические параметры крыс.

Исследование выполнялось на самцах крыс SD возрастом 8-10 недель. Для проведения исследования сформировали экспериментальные группы (n=6): контрольная группа, группы с введением HDP-1 в дозах - 250 мкг/кг и 400 мкг/кг, HDP-1P в дозах - 250 мкг/кг и 400 мкг/кг. Животным под наркозом (Телазол (4 мг/кг) и Ксилазин (12 мг/кг)) имплантировали катетеры в общую сонную артерию и яремную вену. Исследуемые вещества и физиологический раствор вводили через внутривенный катетер в объеме 1 мл/кг. Для регистрации АД и ЧСС прямым способом через артериальный катетер животное подключали к установке Powerlab ML125. Через венозный катетер вводились вещества после записи базовых значений (15 минут) с последующей регистрацией в течение 90 минут.

При введении HDP-1 и HDP-1P проявился гипотензивный эффект. Причем при введении HDP-1 гипотензивный эффект проявлялся сразу после введения и после 25 минуты до конца записи, тогда как при введении HDP-1P гипотензивный эффект наблюдался только после 25-30 минуты. В группе 250 мг/кг HDP-1 АД статистически значимо снижалось на 23%, в группе с дозой - 400 мг/кг снижалось на 33%. В группе 250 мг/кг HDP-1P АД снижалось на 31%. При введении HDP-1P в дозе 400 мг/кг наблюдалось критическое падение АД и гибель животного, поэтому группу не увеличивали. Статистически значимых отличий ЧСС от контрольной группы не наблюдалось.

В результате выявлена способность HDP-1 и HDP-1P оказывать гипотензивное воздействие на крыс. Субъединица HDP-1P оказывает влияние на гемодинамические показатели с задержкой в 25-30 минут, однако ее действие более выражено чем у димерной HDP-1.

1.19. РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕМСОДЕРЖАЩИХ БЕЛКОВ, СОПРОВОЖДАЮЩЕГОСЯ ПЕРЕНОСОМ ЭЛЕКТРОНА

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

¹ГНЦ РФ Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва

**Авторы внесли равный вклад в работу*

marinaapbch@mail.ru

Гемсодержащие белки выполняют в биологических системах ряд жизненно важных функций. Взаимодействие гемсодержащих белков нейроглобина (Ngb) и цитохрома *c* (Cyt *c*), происходящее с переносом электрона, считается одним из потенциальных механизмов клеточной защиты от апоптоза, что предполагает несомненную практическую значимость изучения данной реакции. На настоящий момент данное взаимодействие исследовано недостаточно, в том числе из-за методических сложностей постановки экспериментов. Спектроскопия резонансного комбинационного рассеяния (РКР) позволяет изучать взаимодействие Ngb и Cyt *c*, т.к. их гемы относятся к разным типам (*b* и *c*), а спектры РКР имеют характерные пики, позволяющие различать сигнал от гема каждого белка в реакционной смеси. Метод РКР спектроскопии позволяет регистрировать как редокс-изменения гемового железа, так и конформационные изменения гемов.

Нами была разработана методика исследования взаимодействия Ngb и Cyt *c* на основе спектроскопии РКР. Были подобраны условия получения восстановленной формы Ngb, составлены двухстадийные протоколы измерения спектров РКР смеси Ngb(Fe²⁺) и Cyt *c*(Fe³⁺), где происходит перенос электрона от Ngb к Cyt *c* (1), и контрольных спектров смеси Ngb(Fe³⁺) и Cyt *c*(Fe³⁺), где перенос электрона на Cyt *c* возможен только от остаточного восстановителя (НАДФН) в растворе (2). После чего были получены разностные спектры путем вычитания спектров (2) из спектров (1) для учета вклада остаточного НАДФН в восстановление Cyt *c*. Далее был разработан способ статистической обработки разностных спектров, основанный на сравнении *d*-параметра, соответствующего разнице между характеристическими гемовыми пиками на спектрах (1) и (2). Было показано, что происходит изменение параметров C-S связей между гемом и Cys14 и Cys17 Cyt *c*, что предположительно связано со сдвигом гема Cyt *c* в гемовой впадине при взаимодействии с Ngb, а также выявлены аминокислотные замены, приводящие к нарушению переноса электрона (Ngb E60K и E60K/E87K, Cyt *c* K25E). Разработанная методика может быть применена для других редокс-пар гемсодержащих белков.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (гранты №№ 22-24-00985 и 23-74-00006).

1.20. ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ НОВЫХ ТАНАТИН-ПОДОБНЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ИЗ КЛОПА *Riptortus pedestris*

Смолина А.А.¹, Тепловодская Ю.С.^{1,2}, Сафронова В.Н.¹, Овчинникова Т.В.^{1,2},
Пантелеев П.В.^{1,2}

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

²Московский физико-технический институт (национальный
исследовательский университет), Долгопрудный
p.v.panteleev@gmail.com

Танатины - семейство антимикробных пептидов (АМП), вырабатываемых насекомыми для защиты от патогенов. Первый представитель данного семейства был выделен из клопа *Podisus maculiventris*. Данный пептид состоит из 21 аминокислотного остатка, обладает β -шпилечной структурой и проявляет высокую активность в отношении ряда грамотрицательных бактерий посредством нарушения процесса биосинтеза их внешней мембраны. В частности, его основными мишенями являются белки LptA и LptD так называемого Lpt-комплекса, транспортирующего липополисахарид к внешней мембране бактериальной клетки. Благодаря своему механизму действия и отсутствию кросс-резистентности со стороны грамотрицательных бактерий с множественной устойчивостью к конвенциональным антибиотикам, танатины являются перспективными соединениями для создания антибиотиков на их основе.

Основной целью нашей работы была идентификация у насекомых подотряда Heteroptera новых структурных семейств танатин-подобных АМП. Путём биоинформатического поиска с использованием баз данных транскриптомных и геномных последовательностей нами обнаружены два новых семейства β -шпилечных АМП, обладающих структурным сходством с танатинами. Гены, кодирующие гомологи танатина из новых семейств, широко распространены у различных представителей клопов из инфраотряда полужесткокрылых (*Pentatomomorpha*). Несмотря на сходство последовательностей зрелых АМП новых семейств, их белки-предшественники не обладают существенной гомологией с препротанатином. Для изучения биологической активности нами получены рекомбинантные аналоги двух представителей новых АМП из соевого клопа *Riptortus pedestris*, названных Rip-3 и Rip-4. Показано, что данные пептиды в отличие от танатинов характеризуются выраженной селективностью в отношении *Bacillus* и *Mycobacterium* spp., а основной механизм их действия связан с нарушением целостности цитоплазматической мембраны бактерий. Полученные данные указывают на низкую цитотоксичность новых АМП в отношении нормальных клеток человека, что позволяет рассматривать данные молекулы как основу для конструирования новых пептидных антибиотиков.

1.21. СКРИНИНГ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ β -ШИПИЛЕЧНЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПОДОТРЯДА *Heteroptera*

Тепловодская Ю.С.^{1,2}, Смолина А.А.¹, Сафронова В.Н.¹, Овчинникова Т.В.^{1,2}, Пантелеев П.В.^{1,2}

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

²Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный
p.v.panteleev@gmail.com

Большинство возбудителей антибиотикорезистентных инфекций группы ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* sp.) являются грамтрицательными бактериями. В связи с этим действие новых антибактериальных веществ направлено на нарушение целостности внешней мембраны или ингибирование процессов её формирования.

Танатин представляет собой стабилизированный одной дисульфидной связью β -шипилечный антимикробный пептид, состоящий из 21 аминокислотного остатка и проявляющий высокую активность по отношению ко многим грамтрицательным бактериям, в особенности - к *A. baumannii*, *K. pneumoniae* и *Escherichia coli*. Основной механизм действия танатина заключается в специфическом связывании с периплазматическими белками липополисахарид-транспортирующего комплекса (LptA и LptD), что приводит к ингибированию биогенеза внешней мембраны у грамтрицательных бактерий и дальнейшей гибели клетки. Путём гетерологической экспрессии в клетках *E. coli* BL21 (DE3) нами получена панель разнообразных по аминокислотному составу и строению гомологов природных танатинов из различных видов подотряда *Heteroptera*, для которых мы исследовали спектр антибактериальной активности против основных клинически значимых ESKAPE-патогенов. Для одного из наиболее перспективных гомологов танатина, обнаруженного нами у соевого клопа *Riptortus pedestris*, путём отбора и секвенирования резистентных клонов бактерий *E. coli* нами определены потенциальные сайты связывания данного пептида с его основной мишенью - белком LptA. Также нами получен рекомбинантный белок LptA_m в мономерной форме, подходящей для дальнейших экспериментов по изучению особенностей его связывания с танатин-подобными пептидами. Полученные результаты имеют важное прикладное значение с точки зрения разработки новых пептидных антибиотиков, нацеленных на эссенциальные белки Lpt-комплекса грамтрицательных бактерий.

1.22. СТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕТЕРООЛИГОМЕРОВ ФЕРРИТИНА МЕТОДОМ МАЛОУГЛОВОГО РАССЕЯНИЯ, СОВМЕЩЕННОГО С ГЕЛЬ-ФИЛЬТРАЦИОННОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ

Тилинова О.М.¹, Гетте М.С.¹, Сударев В.В.¹, Рижиков Ю.Л.^{1,2}, Баженов С.В.¹, Манухов И.В.¹, Куклин А.И.^{1,2}, Власов А.В.^{1,2}

¹Центр исследований молекулярных механизмов старения и возрастных заболеваний ЛФИ МФТИ, Долгопрудный

²Объединенный институт ядерных исследований, Дубна
oxsana.tilnova@gmail.com

Ферритин - это железосодержащий белковый комплекс, присутствующий практически во всех живых организмах. Комплекс ферритина обладает способностью к самосборке в полую сферу из 24 субъединиц. Стабильность ферритина в широком диапазоне температур и pH делает его перспективным инструментом для биомедицинских приложений, таких как, например, вакцины или доставка лекарств [1]. Гибриды на основе ферритина являются перспективным применением этого белкового комплекса [2], поэтому крайне важно провести структурные исследования, описывающие их сборку. В настоящее время в разработке вакцин широко используется ферритин из *Helicobacter pylori* в качестве платформы для борьбы с различными патогенными заболеваниями. Малоугловое рентгеновское рассеяние в сочетании с гель-фильтрационной хроматографией (МУРР-ГФХ) позволяет получать МУРР-данные более высокого качества и точно понимать каждый компонент смеси, что крайне важно при изучении гибридных образцов.

В данной работе мы исследовали гибридный рекомбинантный белковый комплекс на основе двух ферритинов из *H. pylori*, полученный путем рН-сборки/разборки, методом МУРР-ГФХ. Для этого гетерогенного образца мы определили макропараметры, такие как Rg, Dmax и Vr для различных фракций образца ферритина, подвергнутого воздействию сильноосновного pH, и сделали дальнейшие выводы о стехиометрии этих гибридных глобул. Мы предположили, что эти макропараметры соответствуют гибридным 24-мерным глобулам, сосуществующим с отдельными мономерами как ферритина, так и димеров. Кроме того, есть предположения о существовании гетеродимерной фракции.

Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение 075-03-2024-117, проект FSMG-2021-0002).

Литература

1. Ferritin self-assembly, structure, function, and biotechnological applications / V.V. Sudarev, S.M. Dolotova, S.M. Bukhalovich et al. // International Journal of Biological Macromolecules. - 2023. - Vol. 224.
2. Two-Component ferritin nanoparticles for multimerization of diverse trimeric antigens / I.S. Georgiev, M. G. Joyce, R. E. Chen et al. // ACS Infectious Diseases. - 2018. - Vol. 4.

1.23. ДЕЙСТВИЕ ДЕФЕНСИНА NaD1 ПРОТИВ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ И РЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ *Candida albicans*

Шевченко О.В.^{1,2}, Богданов И.В.¹, Овчинникова Т.В.^{1,2}, Финкина Е.И.¹

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

²Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный
finkina@mail.ru

Кандидоз является широко распространенным заболеванием, наиболее часто вызываемым *Candida albicans*. Это заболевание может проявляться в различных формах - от поверхностных инфекций, таких как оральный или вагинальный кандидоз, до системной кандидемии, угрожающей жизни пациента. В патогенезе заболевания важную роль играют такие факторы вирулентности гриба, как способность к адгезии, морфологическим изменениям и образованию устойчивых биопленок. Ограниченный список существующих антимикотиков, их токсичность и растущее число резистентных штаммов *C. albicans*, делают актуальным поиск новых препаратов для лечения кандидозов, прототипами которых могут служить растительные дефенсины.

Целью данного исследования было изучение действия дефенсина табака NaD1 в отношении чувствительных и резистентных штаммов, а также клинических изолятов *C. albicans*. Дефенсин NaD1 получали биотехнологическим способом путем гетерологической экспрессии в клетках *E. coli*. Было показано, что NaD1 в среде Сабуро в равной мере эффективно ингибировал рост всех чувствительных и резистентных штаммов с минимальными ингибирующей и фунгицидной концентрациями 6,25 и 12,5 М, соответственно. Активность NaD1 значительно снижалась при добавлении с среду Сабуро солей в физиологических концентрациях, а также в богатой среде RPMI-1640. NaD1 в среде Сабуро действовал в синергизме с конвенциональным антимикотиком каспофунгином и эндогенными антимикробными пептидами человека - дефенсином HBD2 и кателицидином LL-37 - в отношении некоторых, но не всех, штаммов и клинических изолятов *C. albicans*. Аддитивное действие было показано для комбинаций NaD1 с анидулафунгином и микафунгином из группы эхинокандинов, вориконазолом из группы азолов и эбселеном. NaD1 снижал адгезию резистентных штаммов *C. albicans* на монослой клеток Caco-2, имитирующем кишечный эпителий, и увеличивал антиадгезивные свойства каспофунгина в среде DMEM/F12. NaD1 ингибировал образование биопленок резистентными штаммами *C. albicans* в среде Сабуро и, в гораздо меньшей степени, в среде RPMI-1640, а также усиливал антибиопленочное действие каспофунгина в обеих средах. На основании полученных данных нами высказано предположение о том, что табачный дефенсин NaD1 может быть эффективен для профилактики и лечения кандидоза, в том числе вызванного циркулирующими резистентными штаммами *C. albicans*.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 24-25-00482; <https://rscf.ru/project/24-25-00482/>.

1.24. РАЗРАБОТКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ГИБРИДНОГО БЕЛКА, СПЕЦИФИЧНОГО К РЕЦЕПТОРАМ DR5 И FGFR1

Юань Ц.¹, Исакова А.А.^{1,2}, Куковьякина Е.В.², Гаспарян М.Э.², Яголович А.В.^{1,2}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва

²ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
zijian0820@163.com

Человеческий цитокин TRAIL (Tumor necrosis factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand) обладает выдающейся способностью селективно элиминировать опухолевые клетки, не затрагивая нормальные клетки. Из пяти рецепторов TRAIL, рецептор смерти DR5 является ключевым для передачи сигнала клеточной гибели путем апоптоза. В связи с этим разработка препаратов, нацеленных на активацию рецептора DR5, представляет собой многообещающую стратегию терапии рака. Также известно, что активация рецепторов фактора роста фибробластов (FGF), в первую очередь FGFR1, играет чрезвычайно важную роль как в пролиферации трансформированных клеток, так и в формировании опухолевого микроокружения в большинстве типов опухолей.

В данной работе был получен биспецифический гибридный белок на основе DR5-специфичного варианта цитокина TRAIL DR5-В с пептидом-антагонистом FGFR1. Рекombинантный белок был экспрессирован в клетках *E. coli* и очищен с помощью металл-аффинной и ионообменной хроматографии. Аффинность полученного гибридного белка к рецепторам-мишеням DR5 и FGFR1 была показана с помощью иммуоферментного анализа. Гибридный биспецифичный белок продемонстрировал высокую цитотоксическую активность *in vitro* на опухолевых клеточных линиях, экспрессирующих рецепторы DR5 и FGFR1. Таким образом, разработанный рекombинантный гибридный белок DR5-В с пептидом-антагонистом FGFR1 перспективен для дальнейших исследований противоопухолевой активности *in vivo* на ксенографтных мышинных моделях человеческих опухолей с гиперэкспрессией рецепторов-мишеней DR5 и FGFR1.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №24-14-00250, <https://rscf.ru/project/24-14-00250/>.

1.25. УНИКАЛЬНЫЙ ТОКСИН ИЗ ЯДА ПАУКА *Pterinochilus murinus* БЛОКИРУЕТ ПОРУ ПОТЕНЦИАЛ-ЗАВИСИМЫХ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ

Юнусова В.А.¹, Лушпа В.В.¹, Деев Я.А.¹, Бочаров Э.В.¹, Финол-Урданета Р.К.², Адамс Д.Ж.², Кузьменков А.И.¹, Василевский А.А.¹

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

²Университет Вуллонгонга, Факультет естественных наук, Вуллонгонг, Австралия

valentinaiunusova@gmail.com

Многие токсины членистоногих, например, пауков и скорпионов, представляют собой фармакологически активные вещества, воздействующие на потенциал-зависимые калиевые каналы (Kv). При этом пептидные компоненты яда пауков являются модуляторами сенсора потенциала каналов из семейств Kv2 и Kv4, тогда как токсины скорпионов - поровыми блокаторами каналов Kv1. Мы впервые обнаружили и охарактеризовали пептид из яда паука, служащий высокоаффинным и селективным блокатором поры Kv1. Этот пептид был выделен из яда африканского птицеяда *Pterinochilus murinus* и получил название муринотоксин.

Для характеристики структурных и функциональных особенностей муринотоксина мы получили его рекомбинантный аналог в гетерологической системе экспрессии. Ген, кодирующий пептид, был синтезирован методом ПЦР из коротких олигонуклеотидов и встроен в вектор рЕТ-32b в одной рамке с геном тиоредоксина. Экспрессию проводили, используя штамм *Escherichia coli* SHuffle T7 Express, гибридный белок очищали методом металл-хелатной аффинной хроматографии. Препарат белка подвергали процедуре рефолдинга с глутатионовой парой. Целевой токсин в индивидуальном состоянии получали несколькими этапами очистки с помощью ВЭЖХ, а корректность его структуры подтверждали коэлюцией с компонентом природного яда.

Методами ЯМР-спектроскопии была изучена пространственная структура муринотоксина, показавшая уникальный для токсинов пауков тип укладки, названный "дисульфид-сцепленной шпилькой". Примечательно, что расположение дисульфидных связей, стабилизирующих укладку муринотоксина, отличается от классического "цистинового узла". Тестирование пептида на широкой панели ионных каналов с помощью методов электрофизиологии показало наличие ингибирующей активности только на каналах семейства Kv1. Сравнение активности муринотоксина по отношению к каналу Kv1.2 и его мутантному аналогу с заменой в поровой области указывает на механизм действия токсина, заключающийся в непосредственном блокировании тока ионов через пору канала.

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

1.26. ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ БАКТЕРИОФАГА *Curtobacterium* spp. АУКА

Якимов А.Ю.^{1,2}, Комаревцев С.К.¹, Левашов П.А.², Мирошников К.А.¹

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

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

andrey.yackimow@yandex.ru

В Российской Федерации за последние 15 лет наблюдается значительный рост производства, потребления и экспорта бобовых культур. Одним из распространенных патогенов бобовых являются бактерии *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (*Cff*), наносящие большой ущерб для урожая сои, фасоли и других зернобобовых по всему миру. Наиболее распространённые методики борьбы с инфекциями *Cff* включают инокуляцию семян посевных растений с антибиотиками и соединениями меди, что приводит к неспецифичному подавлению биодобавок азотфиксирующих бактерий семейства *Bradyrhizobium*, необходимых для роста бобовых растений. Поэтому становится актуальным поиск альтернативных биобезопасных препаратов для борьбы с *Cff*, которые также могут найти применение в рамках концепции органического сельского хозяйства.

В нашей лаборатории был открыт первый литический бактериофаг *Curtobacterium flaccumfaciens* Аука. Однако, поскольку фаговые частицы очень чувствительны по отношению к условиям внешней среды (в частности, УФ-излучению), а также из-за узкой специфичности бактериофага Аука, его использование в качестве компонента потенциального средства для защиты растений может быть затруднено. Поэтому в качестве его возможной альтернативы были рассмотрены пептидогликан-гидролизующие ферменты бактериофага Аука: эндолизин gp11 и вирион-ассоциированный лизин gp12.

В рамках этой работы были получены рекомбинантные формы обоих белков. Была проведено исследование и оптимизация условий рефолдинга полученных ферментов из телец включения. Для полученных препаратов ферментов была изучена их активность по отношению к препаратам живых клеток находящихся в коллекции лаборатории штаммов *Curtobacterium flaccumfaciens*, была определена зависимость активности ферментов от pH и ионной силы, а также концентрации различных катионов двухвалентных металлов и ЭДТА.

СЕКЦИЯ 2

ГЕНЫ И ГЕНОМЫ. МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ. ГЕНОМНОЕ РЕДАКТИРОВАНИЕ

2.1. CRISPRa КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ГЕНОМА НА ПРИМЕРЕ *CTLA4*: АНАЛИЗ СПЕЦИФИЧНОСТИ И OFF-TARGET ЭФФЕКТОВ

Грязева Е.Д., Радион Е.И., Кобызева П.А., Зеленова Е.А., Уласова Н.Ю.,
Владимиров И.С., Макаров В.В.

Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью ФМБА России, Москва
ERadion@cspfmba.ru

CTLA4 (цитотоксический Т-лимфоцитарный антиген 4) является ключевым ингибиторным рецептором иммунной системы, экспрессирующимся в основном в активированных Т-клетках. *CTLA4* негативно регулирует Т-клеточный ответ, конкурируя с CD28 за связывание с CD80 и CD86, расположенными на АПК, и, таким образом, регулирует активацию Т-клеток. Корректная экспрессия *CTLA4* критически важна для функционирования иммунной системы, гетерозиготные мутации *CTLA4* приводят к развитию признаков как аутоиммунитета, так и иммунодефицита с повышенным риском возникновения злокачественных новообразований. Перспективным направлением терапии состояний гаплонедостаточности *CTLA4*, при которых экспрессируется только один аллель *CTLA4*, является использование технологии эпигенетической активации на основе платформы CRISPR/Cas9 - CRISPRa. CRISPRa позволяет провести направленную активацию генов-мишеней с помощью модифицированного белка Cas9 (dCas9), не способного вносить двуниевые разрывы ДНК. Таким образом, CRISPRa является потенциально менее токсичной по сравнению с редактированием генома при высокой эффективности и специфичности.

В нашей работе мы разработали протокол CRISPRa для эпигенетической активации гена *CTLA4* на модели гаплонедостаточности *CTLA4* на клетках Jurkat, являющихся иммортализованной линией Т-лимфоцитов человека. Было показано, что разработанный протокол приводит к активации экспрессии *CTLA4* на несколько порядков, что говорит о его значительной эффективности. Далее, для проверки специфичности и наличия возможных "off-target" эффектов мы активировали *CTLA4* в клетках Jurkat^{*CTLA4*^{-/-}}, после чего провели транскриптомный анализ для оценки изменений экспрессии генов. Было показано, что использование разработанного нами CRISPRa подхода приводит к увеличению/уменьшению экспрессии 1425 и 1321 гена, соответственно. Анализ GSEA показал вовлеченность дифференциально экспрессирующихся генов в фундаментальные процессы, например, такие как сплайсинг, протеасомная деградация, транспорт РНК и репликация ДНК. Таким образом, наши результаты демонстрируют необходимость проведения оценки "off-target" эффектов в целях безопасности, особенно в клинических приложениях.

2.2. ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ, СИНТЕЗИРОВАННЫХ НА МИКРОЧИПАХ, ДЛЯ СБОРКИ ДЛИННЫХ ФРАГМЕНТОВ ДНК

Катичева А.Э., Семашко Т.А.

Научно-исследовательский институт системной биологии и медицины
Роспотребнадзора, Москва
annka.cat@yandex.ru

Синтетическая биология - молодая отрасль науки, основной задачей которой является создание биологических систем *de novo*. С развитием данной области появляется потребность в разработке новых высокопроизводительных методов синтеза протяженных последовательностей ДНК.

Синтез олигонуклеотидов на микрочипах является более производительным и дешевым по сравнению с классическими методами. В данной работе была исследована возможность использования олигонуклеотидов, синтезированных на микрочипах, для получения длинных фрагментов ДНК. В качестве целевого фрагмента были выбраны опероны генов трансляции *Mycoplasma gallisepticum*, объединенные в последовательность длиной в 87 тыс. п.н.

Нами была оптимизирована методика селективной ПЦР-амплификации пулов олигонуклеотидов для преодоления ряда трудностей, с которыми сопряжено использование олигонуклеотидов с микрочипов. Также нами были предложены два варианта сборки последовательностей из олигонуклеотидов, синтезированных на микрочипах. Была проведена оценка числа ошибок в полученном фрагменте ДНК длиной в 1 тыс. п.н. и сравнение с количеством ошибок в контрольных фрагментах. Общее число ошибок в полученной последовательности составило $6,8 \pm 1,71$, в контрольной - $3,92 \pm 1,96$. Количество делеций в фрагментах из олигонуклеотидов, синтезированных на микрочипах, оказалось выше в 2,66 раза. При условии оптимизации данной методики её использование является перспективным в дальнейшем.

Полученные из стандартных олигонуклеотидов фрагменты длиной в 1 тыс. п. н. были использованы для синтеза более протяженных конструкций. Была продемонстрирована возможность объединения таких фрагментов в последовательности длиной в 2 тыс. п.н. в ходе ПЦР. Такая методика может быть применена и для фрагментов из олигонуклеотидов, синтезированных на микрочипах.

Работа проводилась при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-29-08043) и Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (грант 122030900107-3).

2.3. КООРДИНАЦИЯ ТРАНСКРИПЦИИ С ПРОЦЕССИНГОМ И ДЕГРАДАЦИЕЙ РНК В *Escherichia coli*

Серова Т.Д.^{1,2}, Прошкин С.А.²

¹Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный

²Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Москва
serova.td@phystech.edu

Регуляция метаболизма РНК лежит в основе способности бактерий быстро адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды. Ограничение времени жизни РНК позволяет клеткам обеспечить высокую скорость реагирования и эффективно переключать программы экспрессии генов. В *Escherichia coli* процессинг и деградация большинства РНК осуществляется мультибелковым комплексом - РНКазой E, центральный каталитический компонент которого, РНКазы E, осуществляет первоначальное эндонуклеазное расщепление РНК, сопровождаемое действием различных 3'-5' экзонуклеаз. Было обнаружено, что временная инактивация РНКазы E обратимо нарушает SOS-ответ клетки, однако механизм такой координации неясен. Ранее считалось, что РНКазы E действует исключительно на пост-транскрипционном этапе. Недавнее установление РНКазы E среди белков *E. coli*, сшивающихся формальдегидом с РНК-полимеразой (РНКП) *in vivo*, позволяет предположить более тесную связь транскрипции с процессингом и/или деградацией РНК.

На основе структурных данных, мы выявили аминокислотные остатки, необходимые для связывания РНКП с РНКазой E, и сделали прецизионные мутации в хромосоме *E. coli*, ведущие к аминокислотным заменам в соответствующих позициях РНКП. Выяснилось, что полученные штаммы чувствительны к воздействию ряда генотоксических агентов, при этом возникает дефект в индукции SOS-ответа. Дальнейшие исследования покажут, опосредовано ли транскрипцией участие РНКазы E в SOS-ответе.

Для изучения координации деградации мРНК с транскрипцией и трансляцией мы приготовили плазмидную конструкцию с геном *lacZ* и ввели стоп-кодон в середину гена для преждевременной терминации трансляции и образования протяженного 3'-нетранслируемого участка. Разобщение транскрипции с трансляцией после стоп-кодона ведет к Rho-зависимой терминации транскрипции. Используя ингибитор фактора Rho бицикломицин в опытах по измерению времени жизни разных участков мРНК *lacZ*, мы обнаружили, что Rho ускоряет реградацию 3'-нетранслируемой области мРНК.

2.4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИЗОФОРМ-СПЕЦИФИЧНЫХ ПАРТНЕРОВ ЭКДИЗОНОВОГО РЕЦЕПТОРА В РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЯХ *Drosophila melanogaster* МЕТОДОМ ПРОКСИМАЛЬНОГО БИОТИНИЛИРОВАНИЯ

Шокодько И.А.¹, Зиганшин Р.Х.², Воробьева Н.Е.¹

¹Институт биологии гена РАН, Москва

²ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
nero.fact@gmail.com

Основной целью работы нашей научной группы является изучение механизмов, позволяющих экдизону (стероидному гормону дрозофилы) вызывать активацию различного набора генов-мишеней в разных тканях. Мы полагаем, что координация воздействий гормонального и тканеспецифического сигнала может происходить на уровне стимуляции различного набора регуляторных элементов (энхансеров) в различных тканях.

Для того, чтобы установить какие транскрипционные регуляторы помогают экдизоновому рецептору EcR активировать тканеспецифические регуляторные элементы, нами было решено провести эксперименты по определению белковых партнеров EcR в различных тканях личинки дрозофилы при помощи метода проксимального биотинилирования.

Для этого мы создали генетические конструкции, кодирующие EcR-A и EcR-B изоформы экдизонового рецептора, слитые с последовательностью биотин-лигазы TurboID, под контролем регуляторных сайтов UAS, позволяющих добиться тканеспецифической экспрессии белка при скрещивании с драйверами GAL4. Мы интегрировали созданные конструкции в геном *Drosophila melanogaster*. Скрещивание полученных линий мух с драйверами *sgs3-GAL4* и *elav-GAL4* позволило нам добиться экспрессии слитных белков в тканях слюнных желез и мозга соответственно. Используя белковый экстракт указанных тканей, мы обогатили его при помощи трипсин-устойчивой стрептавидин-сефарозы и исследовали обогащенную фракцию при помощи фингерпринтного анализа с применением LC-MS/MS. Проведенная серия экспериментов позволила нам обнаружить, как ранее описанных, так и не известных партнеров экдизонового рецептора EcR. В своей дальнейшей работе мы планируем исследовать роль обнаруженных партнеров в экдизонном ответе в различных тканях.

Работа по данной теме была поддержана грантом РФФИ №23-14-00184. Эксперименты по фингерпринтному анализу были проведены с использованием оборудования ЦКП ИБХ РАН.

2.5. ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА ТРЕХ ВИДОВ БАЙКАЛЬСКИХ АМФИПОД

Юдинцева А.В., Букин Ю.С., Романова Е.В., Петунина Ж.В., Щербаков Д.Ю.

Лимнологический институт СО РАН, Иркутск

udinceva.a@yandex.ru

Митохондриальный (мт) геном большинства многоклеточных животных включает 13 белок-кодирующих генов, 2 рибосомных гена (рРНК) и 22 транспортные РНК (тРНК). Генетический код митохондрий не универсален, и на сегодняшний день известно 13 его вариантов. Один из механизмов переназначения кодонов - ремолдинг тРНК генов (изменение идентичности тРНК вследствие точечных мутаций в антикодоновой последовательности).

Амфиподы - древнейший и самый разнообразный отряд ракообразных в озере Байкал. Установлено, что мт геномы байкальских амфипод отличаются по длине и порядку генов, а у некоторых видов выявлен ремолдинг тРНК генов (*in silico*) [1].

В данной работе исследовалась структура трех полных мт геномов байкальских амфипод: *Eucarinogammarus waggii*, *Odontogammarus margaritaceus*, *Carinurus belkinii*.

Образцы были собраны в экспедициях 2015 и 2023 годов. Экстракция ДНК осуществлялась фенол-хлороформным методом. Секвенирование выполнялось компанией "Novogene". Сборка мт геномов выполнялась в программе "MitoZ", обнаружение альтернативных вариантов нуклеотидов производилось в программе "Variant Calling", аннотирование генома выполнялось в программе "MITOS", визуализация и корректировка границ генов выполнялись в "GenomeView", оценка GC-состава осуществлялась программой "EMBOSS".

Длина мт генома *E. waggii* составила 17232 п.н., *O. margaritaceus* - 16304 п.н., *C. belkinii* - 16774 п.н. GC-состав полных мт геномов *E. waggii* и *C. belkinii* равен 0,33, тогда как у *O. margaritaceus* он выше - 0,36. При оценке GC-состава каждого гена в отдельности наибольшие значения также выявлены у вида *O. margaritaceus*. Установлено, что у вида *E. waggii* отличается порядок генов тРНК, а также у данного вида выявлен ремолдинг tRNA V←tRNA M.

Вероятно, явление ремолдинга играет важную роль в эволюции данного отряда организмов, поскольку помимо роли адаптера в процессе трансляции, тРНК выполняют ряд важных функций в других молекулярных процессах. Специфические экологические условия озера, вероятно, способствуют образованию дополнительных копий тРНК генов и их ремолдингу.

Литература

1. Romanova E. V. et al. Hidden cases of tRNA gene duplication and remolding in mitochondrial genomes of amphipods //Molecular phylogenetics and evolution. - 2020. - T. 144. - С. 106710. doi: 10.1016/j.ympev.2019.106710

2.6. РАЗРАБОТКА УНИВЕРСАЛЬНОГО ПОДХОДА ДЛЯ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ GNAO1-ЭНЦЕФАЛОПАТИИ

Юсеф А.^{1,2,3}, Лунев Е.А.^{1,3}, Савченко И.М.³, Шмидт А.А.^{1,3}, Бардина М.В.^{1,3}

¹Институт биологии гена РАН, Москва

²Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Москва

³ООО "Марлин Биотех", Сочи
aa98yousef@gmail.com

GNAO1-энцефалопатия - это орфанное неврологическое расстройство, вызванное гетерозиготными *de novo* мутациями в гене *GNAO1*. Заболевание характеризуется ранними младенческими эпилепсиями и/или двигательными расстройствами. Ген *GNAO1* кодирует альфа-субъединицу гетеротримерного белка G ($G\alpha$), который играет важную роль в нейрональной передаче сигналов. $G\alpha$ широко экспрессируется в центральной нервной системе и наиболее представлен в мозжечке и глубоких областях мозга. Различные мутации в *GNAO1* приводят к потере или усилению функции белка $G\alpha$, а также к доминантно-негативной активности. Текущие подходы к лечению являются симптоматическими, при этом генная терапия с использованием аденоассоциированных вирусов (AAB) имеет большие перспективы для лечения таких расстройств.

Нашей целью является разработка универсальной стратегии генной терапии под названием "Silence and Replace", которая подходит для всех мутантных вариантов. Идея состоит в том, чтобы подавить экспрессию эндогенного *GNAO1* с помощью эффекторов РНК-интерференции (Silence) и доставить кодон-оптимизированную копию гена, устойчивую к подавлению (Replace). На первом этапе мы разработали плазмидный AAB-вектор с двумя компонентами: (1) искусственной miRNA для подавления *GNAO1* (miR-GNAO1) и (2) кодон-оптимизированной CDS гена *GNAO1* с HA-тагом (*coGNAO1*-HA). Экспрессия *coGNAO1*-HA и его устойчивость к подавлению miR-GNAO1 были протестированы в клетках HEK293T на уровне мРНК и белка. Затем мы оценили наш подход в первичной культуре мышиных нейронов. Трансдукцию проводили AAB-вектором серотипа DJ при множественности 10^5 геномных копий (ГК) на клетку. AAB-опосредованная экспрессия *coGNAO1* в первичных нейронах превысила эндогенный уровень экспрессии. На следующем этапе мы протестировали возможность доставки и экспрессии конструкции для "Silence and Replace" *in vivo*. 8-недельным мышам дикого типа C57BL/6 системно вводили AAB-вектора серотипа 9 с двойной мутацией (Y446F/Y731F) в дозе 2×10^{14} ГК/кг. Через 4 недели после заражения мы собирали целевые (мозжечок, кора головного мозга, базальные ганглии) и нецелевые органы (печень, сердце) для анализа. Методом ОТ-кПЦР была выявлена экспрессия miR-GNAO1 во всех исследованных органах. Далее мы планируем протестировать уровни *coGNAO1* и мышиного *Gnao1* методами ОТ-кПЦР и вестерн-блота, а также проверить экспрессию *coGNAO1* на срезах мозга с помощью иммуногистохимии, используя антитела к HA-тагу.

СЕКЦИЯ 3

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ, УГЛЕВОДОВ И НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ

3.1. ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ СИДНОНИМИНОВ КАК МОДУЛЯТОРОВ ОТВЕТА РАСТЕНИЙ НА ДЕЙСТВИЕ ЗАСУХИ МЕТОДАМИ БОТТОМ-UP ПРОТЕОМИКИ

Гурина А.К.¹, Билова Т.Е.^{1,2}, Черевацкая М.А.¹, Леонова Т.С.², Шумилина Ю.С.², Орлова А.А.², Силинская С.А.², Черепанов И.А.³, Калганова Н.В.³, Фролов А.А.³

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

²Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва

³Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва
E-mail: gnastyako@gmail.com

Широко известно, что засуха представляет собой один из ключевых климатических факторов, негативно сказывающихся на продуктивности растений и качестве урожая. В настоящий момент существует ряд подходов, направленных на попытку снизить разрушающие эффекты засухи на растения, среди которых можно выделить применение разнообразных модуляторов ответа на стресс, в том числе синтетических. На молекулярном уровне основа их действия может лежать в активации специфических сигнальных и защитных каскадов, что, в свою очередь, до определенной степени снижает губительное воздействие стрессора. Однако, для комплексного понимания протекторных свойств конкретного вещества эффект их применения должен быть оценен на физиологическом и биохимическом уровне.

Химические соединения из группы сиднониминов проявляют себя как перспективные фитозффекторы. Они представляют собой мезоионные гетероциклические соединения, которые также способны быть донорами оксида азота (NO) в клетке. В свою очередь, NO - важная сигнальная молекула, которая, как предполагается, участвует в том числе в защитных механизмах в организме растения в условиях засухи. В частности, NO воздействует на активность белков через посттрансляционную модификацию остатков цистеина в полипептиде, называемую S-нитрозилированием. В параллельном метаболическом исследовании семян молочной спелости гороха было установлено, что сиднонимины В1-01 и В1-05 проявляли потенциальные протекторные свойства, а SP-13 - гербицидные. После проведения предварительной оценки стресс-ответа растений гороха на физиологическом и биохимическом уровне, был выполнен протеомный анализ семян молочной спелости в трех вариантах обработки: предобработка семян, обработка листьев или комбинированная обработка. Для этого было выполнено выделение тотальной фракции белка семян, которая была подвергнута ограниченному протеолизу трипсином и проанализирована с помощью нанопоточной обратнофазовой жидкостной хроматографией, сопряженной онлайн с масс-спектрометром Orbitrap Fusion Tribrid (nanoRP-HPLC-LIT/Q-Orbitrap-MS). Статистический анализ на базе программного обеспечения Protome Discoverer 2.2, Progenesis Q1 с последующей обработкой данных в среде программирования R позволил выявить белки, дифференциально-экспрессированные в ответ на воздействие засухи и сиднонимин, установить их функциональные классы и субклеточную локализацию. В результате было выдвинуто предположение о протекторном потенциале исследуемых веществ.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 22-26-00337).

3.2. РАЗРАБОТКА ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ПЕПТИД-СОДЕРЖАЩИХ ЛИПОКОНЬЮГАТОВ С ВИНИЛСУЛЬФОНОВЫМ ЛИНКЕРОМ

Дроздов С.А., Липенский В.М., Шмендель Е.В., Маслов М.А.

МИРЭА - Российский технологический университет, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва
lipenskiy.v.m@gmail.com

Выживаемость пациентов с диагнозом рак остается очень низкой даже после современного мультимодального лечения - хирургической резекции с последующей лучевой терапией или химиотерапией. Инфильтративный рост раковых клеток, например, глиом, делает невозможным полное удаление опухолевых тканей без нарушения работы соседних органов, что приводит к быстрому рецидиву заболевания. Химиотерапевтические агенты (тегафур, цисплатин и др.), как правило, обладают нефротоксичностью, тромбоцитопенией и быстрым периодом полувыведения из организма. Генная терапия - метод лечения онкологических заболеваний нового поколения, основанный на доставке терапевтических нуклеиновых кислот (НК) в раковые клетки с помощью векторов доставки (ВД). ВД (вирусы, полимерасомы, дендримеры, липосомы и др.) необходимы для предотвращения неконтролируемой биотрансформации НК при системном введении в организм. Широкое применение получили катионные липосомы (КЛ), которые увеличивают период полувыведения НК из организма. Кроме того, КЛ можно функционализировать различными адресными липоконъюгатами, что позволяет задействовать стратегию активного нацеливания на раковые клетки и увеличивать накопление терапевтических НК в клетках-мишенях. В качестве нацеливающих лигандов для модификации КЛ используются пептиды. Среди пептидов одной из наиболее распространенной является аминокислотная последовательность RGD, которая обладает повышенным средством к рецепторам $\alpha_v\beta_3$, являющимися высокоспецифичными биомаркерами рака.

Целью данной работы является создание предшественников пептид-содержащих липоконъюгатов с винилсульфоновым линкером. Данный линкер более устойчив к гидролизу в физиологических условиях и является аналогом классического малеимидного линкера, позволяющего присоединять цистеин-содержащие RGD-пептиды, благодаря сопряженному присоединению тиольной группы в ходе реакции Михаэля. Были синтезированы бис-винилсульфоновые ПЭГ-спейсеры различной длины для повышения пространственной доступности адресного RGD-лиганда и селективного связывания с интегринами раковых клеток. Для введения гидрофобного фрагмента произведено взаимодействие диалкилглицерина с бис-винилсульфоновым спейсером, которое позволило получить предшественников пептид-содержащих липоконъюгатов.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 23-73-10168).

3.3. ПОИСК ЭНДОГЕННЫХ СУБСТРАТОВ ДЛЯ БИОСИНТЕЗА РАМНОГАЛАКТУРОНАНА I ВОЛОКОН ЛЬНА

Михайлова А.А., Горшкова Т.А., Микшина П.В.

ФИЦ "Казанский научный центр Российской академии наук", Казанский институт биохимии и биофизики, Казань
lika.mikhailova@mail.ru

Расшифровка механизмов биосинтеза сложных растительных гликанов открывает возможности для целенаправленной манипуляции составом растительного сырья и регуляции его свойств. Выявление конкретных участников процесса биосинтеза может также послужить основой для успешных попыток контролируемого синтеза сложных гликанов *in vitro*, что частично снимает вопросы с необходимостью очистки и стандартизации.

К одному из наиболее сложных по структуре типу растительных полисахаридов относятся рамногалактуронаны I, широко распространенные многофункциональные пектины, остов которых построен из чередующихся остатков рамнозы и галактуроновой кислоты и несет разнообразные боковые цепи. Развитие омиксных технологий позволило выявить пару гликозилтрансфераз, обеспечивающих наращивание остова этих полисахаридов, а также несколько ферментов, вовлеченных в удлинение боковых цепей. Однако, с чего именно начинается биосинтез и происходит ли присоединение боковых цепей одновременно с наращиванием остова до сих пор неизвестно.

В нашей работе мы выдвигаем идею, что для инициации биосинтеза рамногалактуронана I необходим не единичный УДФ-предшественник в качестве акцептора для действия гликозилтрансфераз, а короткая последовательность ("затравка"), которая может включать не только углеводный компонент. С использованием оптимизированного нами инструментария, подразумевающего совместное инкубирование УДФ-сахаров, микросомальных фракций и потенциальных "затравок", наработанных нами при работе с модельной системой растений льна, характеризующихся активным биосинтезом рамногалактуронана I на этапе формирования третичной клеточной стенки, в докладе будут продемонстрированы доказательства нашей идеи и раскрыты особенности относительно последовательности присоединения остатков остова и боковых цепей рамногалактуронана I на самых ранних этапах инициации его биосинтеза.

Работа частично поддержана государственным заданием КИББ ФИЦ КазНЦ РАН.

3.4. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СИДНОНИМИНОВ НА РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В СЕМЕНАХ *Pisum sativum* L. В ОТВЕТ НА ЗАСУХУ

Силинская С.А.¹, Маргарит А.А.¹, Гурина А.К.², Орлова А.А.¹, Соболева А.В.¹, Билова Т.Е.^{1,2}, Камиионская А.М.³, Черевацкая М.А.², Фролов А.А.¹

¹Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

³ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

svetlanasilsv@mail.ru

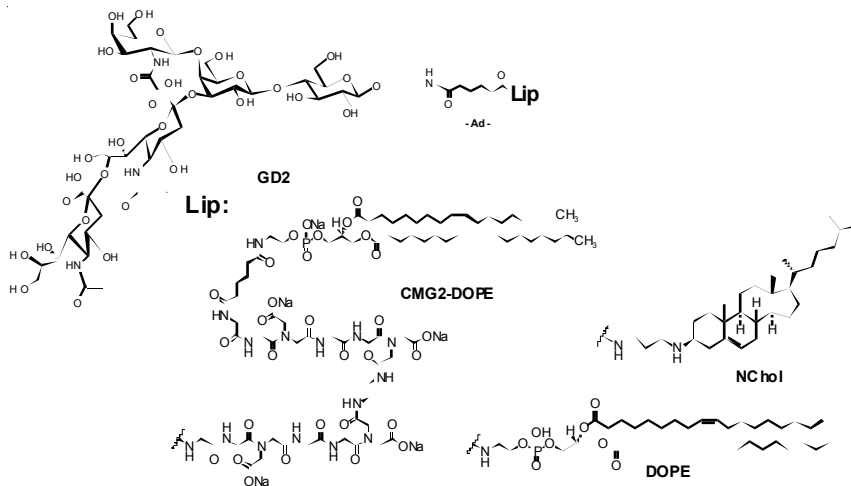
Разработка протекторных агрохимикатов (фитоэффекторов) является одним из перспективных направлений для повышения урожайности и качества продукции сельскохозяйственных культур в условиях неблагоприятного климата. Они могут действовать на молекулярном уровне, активируя защитные механизмы растений и улучшая их способность адаптироваться к неблагоприятным условиям. В качестве фитоэффекторов могут быть использованы некоторые представители группы сиднониминов - мезоионных гетероциклических соединений, являющихся донорами оксида азота (NO), - важной сигнальной молекулы. Предполагается, что благодаря генерации NO сиднонимин потенциально способен активировать защитные адаптационные механизмы растений и тем самым способствовать сохранению урожая в условиях засухи. В данной работе были протестированы сиднонимин В1-01 и SP-13, потенциально протекторные в отношении их способности улучшать устойчивость к засухе растений гороха *P. sativum* L., и В1-05, предположительно оказывающий ингибирующее рост действие. Был опробован способ применения сиднониминов путем обработки семян перед посевом. Было показано, что уровни содержания ТБК-реактивных веществ и пероксида водорода в созревающих семенах, сформированных в условиях засухи растениями, выросшими из семян предобработанных сиднонимин SP-13, становятся на 23% и 48%, соответственно, ниже по сравнению с их уровнями в контроле (т.е. в семенах, сформированных в условиях нормы растениями, выросшими из необработанных семян). Подобное воздействие другими тестируемыми сиднониминами либо не оказывало влияния на эти параметры (В1-05), либо способствовало повышению содержания ТБК-реактивных веществ в созревающих семенах на 18% по сравнению с контролем (В1-01). Все тестируемые сиднонимин не оказывали влияния на уровни содержания липидных перекисей, аскорбиновой и дегидроаскорбиновой кислот в продукции обработанных растений в условиях засухи. Таким образом, можно полагать, что из трех тестируемых сиднонимин только SP-13 обладает протекторным действием, снижая уровни ТБК-реактивных веществ и H_2O_2 в семенах стрессованных растений, способствуя повышению их качества.

3.5. ПОЛУЧЕНИЕ FSL-КОНСТРУКТОВ, СОДЕРЖАЩИХ ПЕНТАСАХАРИД GD2

Соколова М.С., Бовин Н.В., Рыжов И.М.

ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
sms21297@gmail.com

Углеводной частью ганглиозида GD2 является пентасахарид, характерной особенностью которого - наличие дисиаляового блока (двух связанных остатков N-ацетилнейраминовой кислоты). Он присутствует в небольшом количестве на нервных клетках, но значительно более активно экспрессируется на клетках некоторых видов рака. Таким образом, GD2 является опухолеассоциированным антигеном и представляет интерес для онкотерапии при помощи моноклональных антител. При этом данные, полученные в нашей лаборатории (неузнавание GD2, встроенного извне в клетки, его не экспрессирующие, анти-GD2 антителами) свидетельствуют о недостаточной изученности механизма взаимодействия GD2 с антителами. Для подробного изучения этого механизма мы решили получить синтетические аналоги GD2, структурные модификации которых моделируют факторы, потенциально влияющие на взаимодействие встроенного в мембрану GD2 и антител (ориентация GD2 по отношению к мембране, маскирование элементами гликокаликса и т.д.).



Мы синтезировали три FSL-конструкта (Function-Spacer-Lipid), содержащих пентасахарид GD2 и различные спейсерные и липидные фрагменты: CMG2-DOPE (CMG-спейсер на основе карбоксиметилглицина, DOPE - диолеилфосфатидилэтаноламин), Ad-DOPE (Ad - адипоил), 3 β -аминохолестерин. Первые два конструкта были получены по известным методикам, а подход к третьему конструкту был опробован впервые.

Изучение связывания анти-GD2 антител с полученными конструктами, встроенными в мембрану клеток, не экспрессирующих эндогенный GD2, позволит изучить факторы, влияющие на презентацию GD2 на поверхности клетки и на узнавание этого ганглиозида антителами.

Работа поддержана грантом РФФ № 24-23-00591.

3.6. СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОНЬЮГАТОВ АРОМАТИЧЕСКИХ КИСЛОТ С ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Тараскина А.М., Воронкова В.В., Гроза Н.В.

МИРЭА - Российский технологический университет, Институт тонких
химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва
anastasiataraskina3984@gmail.com

В последние годы в химии и фармацевтике набирает обороты интерес к синтезу низкомолекулярных органических соединений, обладающих уникальными физико-химическими и биологическими свойствами. Одним из перспективных направлений в этой области является получение конъюгатов ароматических кислот с аминокислотами. Эти соединения показывают обширный спектр биологической активности, включая антибактериальную, противовирусную и противоопухолевую, что делает их потенциальными претендентами для создания новых лекарственных препаратов.

В данном исследовании разработан метод синтеза мембранотропных конъюгатов на основе бензойной кислоты и ее аналогов, эфиров ароматических аминокислот, алифатических аминов, имидазолов для изучения их антигрибковой и антибактериальной активности *in vitro*. Синтез осуществлен с применением реакции ацилирования аминов, модификацией метода активированных эфиров. Таким образом были успешно синтезированы метиловый эфир N-бензоилфенилаланина, метиловые эфиры гидроксидов N-бензоилфенилаланина, N-бензоилфенилаланин, среднецепные алифатические амиды ароматических кислот и амиды производных метронидазола. Данные соединения были получены с выходами 29%, 34%, 61%, 65%, 43%, 43%. Структуры соединений были подтверждены с помощью ЯМР-спектроскопии, ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии. Оценка потенциальной антибактериальной и антигрибковой активности осуществлялась в программе PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances). Исследование биологической активности метилового эфира N-бензоилфенилаланина, N-бензоилфенилаланина и бензоата 1-(2-аминоэтил)-2-метил-5-нитроимидазола проводилось на дрожжевом грибе *Yarrowia lipolytica*. Наблюдала зону подавления роста культуры микроорганизмов при помощи диско-диффузионного метода.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, (проект № FSFZ-2003-0004).

3.7. ПОЛУЧЕНИЕ МАННОЗИЛИРОВАННЫХ АДРЕСНЫХ ЛИПОКОНЬЮГАТОВ ДЛЯ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ

Фокина А.А., Пучков П.А., Ештукова-Щеглова Е.А., Шмендель Е.В., Маслов М.А.

МИРЭА - Российский технологический университет, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва
fokinanasta435@gmail.com

На сегодняшний день одной из самых динамично развивающихся областей биомедицины является генная терапия, направленная на создание новых лекарственных препаратов. Для того чтобы добиться успеха в области генной терапии необходимо решить проблему, связанную с доставкой нуклеиновых кислот (НК) в клетки-мишени. Катионные липосомы являются одним из самых универсальных инструментов для доставки НК в клетку, так как обеспечивают защиту НК от деградации в кровотоке и эффективное проникновение через клеточную мембрану. Однако такие системы не обладают специфичностью к клеткам-мишеням. Известно, что распознающие маннозу рецепторы присутствуют на поверхности макрофагов и дендритных клеток. Следовательно, включение маннозилсодержащих адресных липоконъюгатов в катионные липосомы обеспечит направленность доставки НК-вакцины на иммунные клетки.

Мультивалентные адресные липоконъюгаты с остатками D-маннозы демонстрируют высокоспецифичное связывание с дендритными клетками, которое на несколько порядков выше одновалентных лигандов. Целью данной работы является получение адресных липоконъюгатов с матрицами на основе аминспирта Трис и природного полиамина - спермина. На первом этапе синтеза проводилась модификация матриц карбоксильными группами, которые затем конденсировали со спейсерированными производными D-маннозы с терминальной азидной группой в условиях модифицированной реакции Штаундингера. Полученные адресные фрагменты конъюгировали с ПЭГилированными производными холестерина, получая липоконъюгаты, эффективность которых будет оценена в составе катионных липосом.

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 23-73-10168, <https://rscf.ru/project/23-73-10168/>.

3.8. ВЛИЯНИЕ КОМБИНАЦИИ 2-АРАХНОДОИЛДИФТОРГЛИЦЕРОЛА И ЛИЗОФОСФАТИДИЛИНОЗИТОЛА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Щерстяных Г.Д.^{1,2}, Хадур Н.^{1,3}, Грецькая Н.М.¹, Акимов М.Г.¹, Безуглов В.В.¹

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

²Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

³Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный
Galya24may@bk.ru

2-арахнодоилглицерол (2-АГ) является классическим представителем эндоканнабиноидов. Он способен подавлять пролиферацию раковых клеток. Лизофосфатидилинозитол (LPI) стимулирует пролиферацию опухолевых клеток. Обе эти молекулы могут обладать высокой прогностической значимостью. Наличие в системе других эндоканнабиноидов ведёт к изменению каждого из упомянутых эффектов данных веществ.

Целью работы являлось изучение влияния комбинации 2-АГ в виде его стабилизированного аналога, 2-арахнодоилдифторглицерола (2-АДФГ), и LPI на культуры клеток рака молочной железы, а также подтвердить схожесть механизмов действия 2-АГ и 2-АДФГ.

Исследования проводилось на клеточных линиях условно-нормальной молочной железы (MCF-10A), аденокарциномы молочной железы (MCF7, SK-BR-3, BT-474, BT-20 и MDA-MB-231) и карциномы простаты (DU-145).

В ходе эксперимента мы оценивали упомянутые выше эффекты данных веществ в условиях длительной инкубации (72 ч) как самих по себе, так и в виде комбинации. Оценку выживаемости культуры производили методами резазуринового и LDH тестов и прямого подсчета клеток. Дополнительно проверяли задействованные в клеточном ответе рецепторы с помощью селективных блокаторов.

2-ADFG сам по себе оказывал антипролиферативное действие, а LPI - слабое про-пролиферативное. При нокадауне рецептора CB2 эффект 2-АДФГ пропадает.

Работа поддержана грантом РНФ № 23-24-00423/

СЕКЦИЯ 4

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

4.1. БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА ИЗ ГАЛОТОЛЕРАНТНОГО ШТАММА АКТИНОМИЦЕТА *Streptomyces* sp.: ОБНАРУЖЕНИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Андропова А.А.^{1,2}, Синёва О.Н.², Кисиль О.В.², Иванкова Т.Д.²,
Прохоренко И.А.^{2,3}, Кудрякова Г.Х.², Кожина Е.В.², Симонов А.Ю.²,
Левшин И.Б.²

¹МИРЭА - Российский технологический университет, Москва

²Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков
имени Г.Ф. Гаузе, Москва

³ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
nastya.mirea@yandex.ru

В последние годы, с ростом устойчивости к антибиотикам, мало изученные среды обитания и экологические ниши, такие как морские экосистемы, насекомые, и растения, стали потенциальными источниками новых таксонов актиномицетов имеющих потенциал для производства новых антибиотиков. Представители рода *Streptomyces* являются почвенными сапрофитами, известными продуцентами клинически доступных антибиотиков. В то же время родственные виды из морских отложений как источник антибиотиков остаются недостаточно изученными. В настоящей работе провели выделение и физико-химическую характеристику биологически активных компонентов из галотолерантного штамма актиномицета *Streptomyces* sp., полученных из морских отложений Норвежского моря, с последующим скринингом их антимикробной активности.

Целью данной работы было исследование антимикробной активности соединений, выделенных из галотолерантного штамма актиномицета *Streptomyces* sp. Предварительно были разработаны оптимальные условия образования антибиотических веществ для исследуемого штамма, а именно питательная среда и длительность культивирования. Было проведено накопление культуральной жидкости и последующая экстракция тремя видами растворителей: петролейный эфир, этилацетат, бутанол. Полученные экстракты были протестированы на антифунгальную активность. Показана активность в отношении в отношении *Candida albicans*, *Fusarium solani*, *Aspergillus niger*. Активные вещества были выделены ВЭЖХ, обнаружены три основных компонента. Оптимизированы условия хроматографического разделения, на приборе Shine, колонка ShineSil C-18. Для установления структуры были записаны масс-спектры.

4.2. ОЦЕНКА ВОЗМОЖНЫХ НЕГАТИВНЫХ ЭФФЕКТОВ ИОНОВ МАРГАНЦА В НИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ

Белецкая П.Д.¹, Дубовик А.С.^{1,2}, Швыдкий В.О.¹, Шишкина Л.Н.¹

¹Институт биохимической физика им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва

²Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва

belet-polina@yandex.ru

Антропогенная деятельность приводит к усилению воздействия тяжелых металлов на окружающую среду и человека. Марганец относится к биогенным металлам и необходим для нормального функционирования организма, однако при повышенных или недостаточных концентрациях он начинает проявлять токсичные свойства. Для предупреждения и защиты от неблагоприятных эффектов данного металла необходимо проведение детальных исследований по влиянию марганца на различные структурные элементы в биообъектах. Первой мишенью взаимодействия тяжелых металлов при их попадании в организм являются мембраны, поэтому в представленном исследовании оценивалось влияние ионов марганца в концентрациях 1×10^{-6} М, 1×10^{-5} М и 1×10^{-4} М на липосомы из лецитина и мембраны бактериальных клеток.

При проведении экспериментов использовались две партии лецитина, которые имели близкий фракционный состав. В обработанных по методу Гаусса УФ-спектрах лецитина и его растворов с MnCl_2 выявлено, что существенные изменения в основном присутствуют в области длины волны >300 нм: оптическая плотность при $[\text{Mn}^{2+}] = 1 \times 10^{-4}$ М увеличивается в 2.1 раза, при этом выявлен характерный сдвиг λ в область меньших длин волн (354 нм \rightarrow 331 нм). Представленные данные свидетельствуют о происходящих процессах комплексообразования фосфолипидов (ФЛ) с Mn^{2+} . Дополнительно оценивали содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ): диеновых конъюгатов (ДК) и кетодиенов (КД). Было обнаружено, что значение КД достоверно растет только при $[\text{Mn}^{2+}] = 1 \times 10^{-4}$ М в 1.6 раз. Для анализа изменения структур липосом лецитина оценивались их размеры и ζ -потенциал методом динамического рассеяния света. В водном растворе лецитин образует две фракции агрегатов: около 1000 нм (основная часть) и около 100 нм. Было выявлено, что достоверные различия с контролем наблюдаются только при $[\text{Mn}^{2+}] = 1 \times 10^{-4}$ М: происходит увеличение значения ζ -потенциала (-34.7 мВ \rightarrow -26.5 мВ) и уменьшение размеров частиц обеих фракций (от 1180 нм до 820 нм, от 160 нм до 120 нм). Подобные эффекты объясняются происходящими при данной концентрации процессами ПОЛ, в ходе которых уменьшается количество ненасыщенных жирных кислот и, в результате, липосомы становятся более компактными. Это подтверждают и результаты воздействия Mn^{2+} на интенсивность биOLUMинесценции биологических тест-систем "ЭКОЛЮМ". При $[\text{Mn}^{2+}] = 1 \times 10^{-4}$ М в первые 5 минут экспозиции происходит ингибирование процессов ПОЛ, а через 30 минут их усиление, что связано с проникновением ионов металла внутрь бактериальной клетки.

4.3. ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ С АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ШТАММА *Trichoderma virens* MSU FS-01883

Виноградова Е.А., Маренкова Е.А., Куджаев А.М., Гузля Е.Б.

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

Возникновение антибиотикорезистентности - устойчивости патогенных микроорганизмов к воздействию антибиотиков в результате их адаптации - представляет серьезную угрозу здоровью населения. Поиск среди вторичных метаболитов микроорганизмов новых соединений с антибиотической активностью является одним из путей решения проблемы. Сочетание методов жидкостной хроматографии, хроматомасс-спектрометрии и ЯМР-спектроскопии позволяет извлекать эти природные соединения, идентифицировать и устанавливать их структуру.

Выделение активных вторичных метаболитов штамма-продуцента *Trichoderma virens* MSU FS-01883 включало твердофазную экстракцию (ТФЭ) и обращенно-фазовую ВЭЖХ. Все стадии сопровождалось тестированием на антибиотическую активность методом серийных разведений с использованием тест-штамма *E. coli AtolC KanR*. Масс-спектры чистых фракций соединений были получены с помощью тандемной масс-спектрометрии высокого разрешения. Путем сопоставления спектров с базами данных природных соединений однозначно идентифицировать эти активные метаболиты не удалось, поэтому для идентификации методом ЯМР необходимо было получить сухие пробы в количестве около 1 мг.

Однако на хроматограммах лиофилизатов были зарегистрированы дополнительные пики, отсутствующие при анализе жидких фракций. Варьирование буферных растворов при ВЭЖХ - трифторуксусной кислоты, ацетата аммония, гидрокарбоната аммония - не дало положительного результата. Сравнение масс-спектров исходных компонентов и побочных продуктов указывало на реакции с трифторацетат- и ацетат-ионами, а также на другие трансформации. Использование чистой воды приводило к ухудшению разделения. Оптимальными условиями для стабильности соединений оказалось сочетание ВЭЖХ на буферном растворе ацетата аммония при pH=5 с последующим обессоливанием проб.

Методом ЯМР было установлено, что активными метаболитами данного штамма являются соединения гептелидовая кислота и хлоргидрин гептелидовой кислоты. Биологическое тестирование подтвердило, что вещества обладают слабой антибиотической активностью и сильными цитостатическими свойствами.

4.4. ПРИМЕНЕНИЕ ФЛУОРОГЕН-АКТИВИРУЮЩИХ БЕЛКОВ FAST ВО ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ВРЕМЯ-РАЗРЕШЕННОЙ МИКРОСКОПИИ ЖИВЫХ КЛЕТОК HeLa Kyoto

Гильванов А.Р.¹, Богданова Ю.А.¹, Максимов Е.Г.², Баранов М.С.¹

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

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

aidar_gilvanov@mail.ru

Флуоресцентная время-разрешенная микроскопия (FLIM) позволяет визуализировать несколько флуоресцентных меток, сходных по своим спектральным свойствам, но различающимся по времени жизни флуоресценции. Данная технология позволяет расширить объем информации, доступной к получению в рамках одного спектрального канала. В связи с этим, актуальной задачей является поиск новых меток с различающимися временами жизни флуоресценции. Перспективной платформой для разработки меток для FLIM являются флуороген-активирующие белки. Данные белки не обладают собственным флуорофором, а флуоресценция возникает только при формировании комплекса с флуорогеном - веществом, которое в свободном виде также не обладает флуоресценцией. В виду того, что время жизни флуоресценции зависит от структуры флуорофора и его окружения, метки на основе флуороген-активирующих белков имеют широкие возможности для модификации за счет изменения структуры флуорогена или получения мутантных форм флуороген-активирующего белка.

В данной работе мы исследовали возможность применения четырех мутантных форм флуороген-активирующего белка FAST, в комплексе с флуорогеном арилиден-имидазолонного ряда, обладающего эмиссией в красной области спектра, в качестве меток для FLIM. В живых клетках HeLa Kyoto было установлено время жизни флуоресценции для комплексов FAST-флуороген в виде белков слияния с гистоном H2B и виментином. Было показано, что данная система позволяет одновременное флуоресцентное мечение двух внутриклеточных компонентов (ядро и виментин) с возможностью их разделения по времени жизни флуоресценции.

4.5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ АНТИБИОТИКОВ И АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ МЕТОДАМИ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОФЛУОРИМЕТРИИ

Дорошенко В.А., Сыровой А.С., Калганова Н.И., Терехов С.С.

ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, РАН, Москва
vitaliya059@gmail.com

Разработка новых терапевтических молекул имеет более низкие темпы роста чем растущая антибиотикорезистентность. Одним из ключевых направлений исследований антимикробных препаратов является определение механизмов их действия. Исследование методом проточной цитофлуориметрии позволяет анализировать физиологическое состояние клеток в ответ на воздействие антимикробных пептидов и антибиотиков. Бактериальная мембрана является одним из основных таргетов действия антибиотиков и АМП. Окрашивание флуоресцентными красителями позволяет быстро оценивать изменения в структуре мембраны, а конкретно: изменение мембранного потенциала, пермеабиллизацию и активность эффлюксных насосов. Для измерений светорассеяния и флуоресценции использовался проточный цитофлуориметр LongCyte (Challenbio). В ходе работы было оценено воздействие ряда антимикробных молекул на мембрану как лабораторных штаммов *Escherichia coli*, так и клинических изолятов патогенов, в частности *Klebsiella pneumoniae*. Деполяризация мембраны фиксировалась с помощью потенциал-чувствительного оксолового красителя DiBAC₄(3), который проникает внутрь клеток в деполяризованном состоянии, связываясь с мембраной и сильно окрашивая ее, что регистрируется в FITC канале. Прорыв внешнего липополисахаридного слоя выявляется гидрофобным красителем NPN, который флуоресцирует при взаимодействии с липидами. PI проникает через поврежденные клеточные мембраны и связывается с нуклеиновыми кислотами, что вызывает интенсивную флуоресценцию и позволяет выявить клетки с нарушенной целостностью внутренней мембраны, а EtBr дает возможность определить снижение эффлюксных насосов, вызывая флуоресценцию только данного красителя. Неповрежденные клетки практически не окрашиваются ни одним из красителей, клетки поглощают этидий, но не DiBAC₄(3) или пропидий, деполяризованные клетки поглощают этидий и DiBAC₄(3), но не пропидий, а пермеабиллизированные клетки и клетки с поврежденными мембранами, поглощают и DiBAC₄(3), и пропидий. С помощью методов проточной цитометрии нам удалось сделать предположения о механизме действия ряда антимикробных молекул.

Исследование выполнено при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2024-536.

4.6. РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ СИСТЕМНОЙ ДОСТАВКИ НАНОФОРМУЛЯЦИЙ ДЛЯ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ МОЗГА

Золотарева А.С., Шипунова В.О.

Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Институт биофизики будущего, Долгопрудный
zolotareva.as@phystech.edu

Опухоли мозга являются одними из наиболее тяжёлых и агрессивных видов онкологических заболеваний. При этом, широкий спектр применяемых для химиотерапии препаратов обладает низкой эффективностью, поскольку они слабо способны преодолевать гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Для повышения эффективности преодоления ГЭБ и последующей доставки и высвобождения активных компонентов в поражённой зоне мозга активно разрабатывают инновационные подходы к введению лекарственных препаратов с применением биосовместимых наночастиц.

Целью данного исследования являлся поиск наиболее эффективного способа системного введения наноформуляций для доставки в мозг *in vivo*. В качестве агентов доставки были использованы наночастицы на основе белков, которые обладают пониженной токсичностью и иммуногенностью по сравнению с другими широко применяемыми типами частиц. Был проведён сравнительный анализ эффективности доставки наночастиц в мозг в зависимости от метода введения. В ходе анализа распределения наночастиц в органах *ex vivo* было показано высокое накопление белковых наночастиц в головном мозге. В работе были определены наиболее эффективные наноформуляции для доставки химиотерапевтических препаратов в мозг, разработана система доставки, учитывающая специфику опухолей мозга и требования к безопасности и оценена эффективность разработанной системы доставки на мышинных моделях опухолей мозга.

Таким образом, сравнение различных типов наночастиц и путей их введения позволило выявить лучших кандидатов среди наноформуляций для доставки и эффективного накопления препарата в опухоли головного мозга. Данное исследование открывает широкие перспективы для внедрения эффективных систем на основе наночастиц для доставки химиотерапевтических препаратов в опухоли мозга. Более того, это позволит уменьшить побочные эффекты системной химиотерапии и может повысить её эффективность.

Исследование поддержано Минобрнауки России, проект FSMG-2023-0015.

4.7. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКИ С ПОМОЩЬЮ АНТИ-EGFR АПТАМЕРОВ

Иванов Б.М.¹, Антипова О.М.^{1,3}, Дзариева Ф.М.², Самойленкова Н.С.³, Павлова Г.В.^{2,3}, Копылов А.М.^{1,3}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва

²Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

³Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко, Москва

ivanovb661@yandex.ru

Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) - основной молекулярный маркер глиобластомы (ГБ) - злокачественной опухоли головного мозга. Доксорубин (ДОКСО) - представитель антрациклиновых противоопухолевых препаратов, способный связываться с двуцепочечной ДНК. Молекула ДОКСО обладает флуоресценцией с поглощением при 480 нм и эмиссией при 590 нм.

В настоящей работе в качестве молекулярных узнающих элементов исследовали ДНК-аптамеры к EGFR: U31, GR20 и Gol1, а также аптамерные конструкции GR20hh и Gol1hh с дополнительным двуцепочечным участком (АККО). Эффективность интеркаляции оценивали при помощи флуоресцентного титрования, полученные кривые аппроксимировали уравнением Хилла. Скорость эндоцитоза комплексов АККО-ДОКСО в клетки оценивали с помощью анализа кривых выживаемости клеток. Исследования проводили на модельных линиях клеток MCF7 и A431 с низкой и высокой представленностью EGFR, соответственно, на клетках культуры дермальных фибробластов DF1, а также на клетках перевиваемой культуры ГБ пациентов.

Проведено сравнение интеркаляции ДОКСО в аптамеры и аптамерные конструкции на основе комплементарных олигонуклеотидов. Показано, что интеркалированный ДОКСО сохраняет цитотоксические свойства, при этом "наращивание" дополнительного двуцепочечного участка увеличивает эффективность связывания ДОКСО. Действие комплексов аптамеров и АККО с ДОКСОм зависит от представленности EGFR и эффективности связывания ДОКСО.

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

4.8. ПУШПУЛЬНЫЕ ЕНАМИНЫ - НОВЫЕ ПРОДУКТЫ В РЕАКЦИИ 1,5-ГИДРИДНОГО СДВИГА

Иванов Д.С.^{1,2}, Смирнов А.Ю.¹

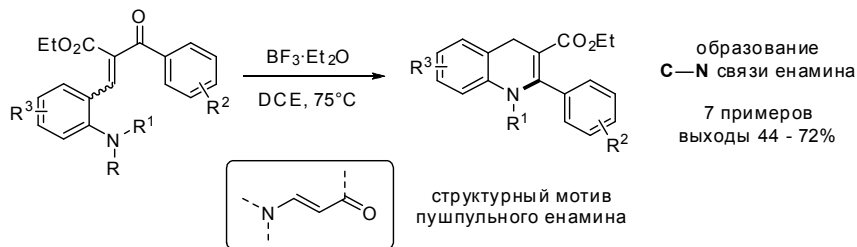
¹ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

d-ivanov.dmitry@yandex.ru

Классическая реакция 1,5-гидридного сдвига с последующей С-С циклизацией позволяет получать сложные гетероциклические структуры эффективными атом-экономичными методами, что находит широчайшее применение в синтезе биологически активных соединений. Развитие методологии этого процесса нашей группой позволило направить стадию циклизации по альтернативному пути с образованием С-Н связи амидной группы [1]. Наша новая работа включает распространение этой реакции на бензилиденные производные бензоилуксусного эфира и его аналогов. Под действием трифторида бора эти субстраты циклизуются с образованием С-Н связи пушпульного енаминового фрагмента.

Тандем 1,5-гидридный сдвиг - циклизация



Получаемые продукты - пушпульные енамины - представляют собой ценный класс соединений, широко применяемых в синтезе гетероциклов. Реакция распространена на 7 субстратов, изучены её особенности и ограничения. Результаты работы опубликованы в журнале Chemistry of Heterocyclic Compounds [2].

Литература

1. Zaitseva, E.R.; Ivanov, D.S.; Smirnov, A.Yu.; Mikhaylov, A.A.; Baleeva, N.S.; Baranov, M.S. *Molecules* 2022, 27, 5270.
2. Ivanov, D.S., Smirnov, A.Y.; Baranov, M.S. *Chem Heterocycl Comp* 2024, 60, 269-274.

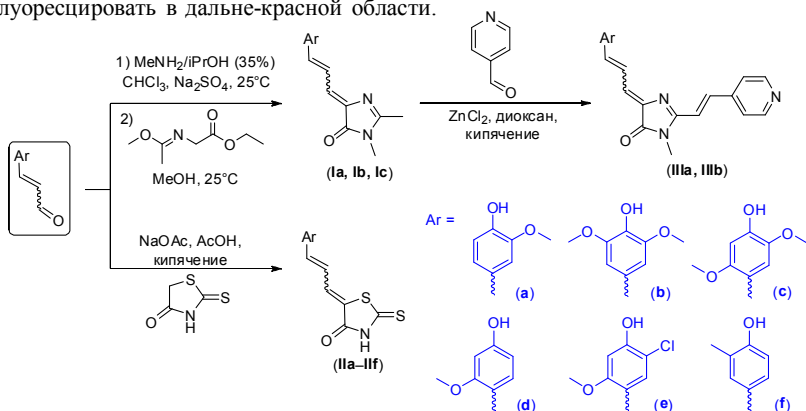
4.9. ДИЗАЙН НОВОЙ ГЕНЕТИЧЕСКИ-КОДИРУЕМОЙ ДАЛЬНЕ-КРАСНОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МЕТКИ НА ОСНОВЕ БЕЛКА nano-frFAST

Краснова С.А.^{1,2}, Богданова Ю.А.¹, Баранов М.С.¹

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

²НИУ "Высшая школа экономики", Москва
svetlanakr2002@mail.ru

Одними из популярнейших генетически-кодируемых флуоресцентных меток на сегодняшний день являются флуороген-активирующие белки. Они флуоресцируют исключительно в присутствии низкомолекулярных флуорогенов. Среди них стоит отдельно выделить белки семейства FAST, отличающиеся небольшими размерами и возможностью варьирования цветовой палитры. Одна из версий этих белков, названная frFAST, способна проявлять высокую флуоресценцию в дальне-красной области в комплексе со специфическим флуорогеном с увеличенной π -системой, что особенно ценно для микроскопии *in vivo*. В настоящей работе на основе frFAST мы предложили новый флуороген-активирующий белок меньшего размера - nano-frFAST, а также синтезировали и исследовали серии флуорогенов с расширенной системой сопряженных связей, способных связываться с предложенным белком и флуоресцировать в дальне-красной области.



Белок nano-frFAST был получен как усеченный вариант белка frFAST. Серии новых флуорогенов для него синтезировали из соответствующих коричных альдегидов. По результатам первичного скрининга *in vitro* был найден наиболее перспективный флуороген (IIc), названный **HPAR-DOM**. Мы установили, что максимум испускания комплекса [nano-frFAST-HPAR-DOM] находится на 662 нм, что соответствует дальне-красному диапазону спектра. Изучение возможности использования комплекса [nano-frFAST-HPAR-DOM] для флуоресцентного мечения отдельных компартментов в живых клетках HeLa Kyoto привело к появлению выраженной флуоресценции в дальне-красном Су5-канале. Таким образом, мы предложили новую генетически-кодируемую дальне-красную флуоресцентную метку на основе белка nano-frFAST и флуорогена **HPAR-DOM**.

4.10. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ ИЗ ГАЛОТОЛЕРАНТНОГО ШТАММА АКТИНОМИЦЕТА *Streptomyces* sp.

Лебедева Е.С.^{1,2}, Синёва О.Н.², Кисиль О.В.², Маркелова Н.Н.², Прохоренко И.А.^{2,3}, Кудрякова Г.Х.², Кожина Е.В.², Симонов А.Ю.², Левшин И.Б.²

¹МИРЭА - Российский технологический университет, Москва

²Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе", Москва

³ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
katerina.lebe2017@yandex.ru

Появление в последние десятилетия устойчивых к антибиотикам патогенных бактерий приводит к острой необходимости разработки новых антибактериальных средств. Представители рода *Streptomyces* известны как продуценты 70-80% всех вторичных метаболитов, используемых в медицине и сельском хозяйстве. Расшифрованные полные последовательности генома *Streptomyces* демонстрируют большое разнообразие кластеров биосинтетических генов, что подчеркивает его потенциальную способность продуцировать новые антибиотики. Одним из перспективных представителей рода *Streptomyces* является галотолерантный стрептомицет, выделенный из грязи озера Тамбукан. Грязи озера Тамбукан издавна используются в лечебных целях на курортах Кавказских Минеральных вод.

Целью данной работы было исследование антифунгальной и антибактериальной активности соединений, выделенных из галотолерантного штамма актиномицета *Streptomyces* sp. Для этого (1) были оптимизированы условия образования антибиотических веществ - варьировали питательные среды и длительность культивирования; (2) провели накопление культуральной жидкости и экстракцию тремя видами растворителей: петролейный эфир, этилацетат, бутанол. Экстракты были протестированы на активность в отношении *Candida albicans*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*. Максимальная активность показана в отношении грамположительной бактерии *B. subtilis* и гриба *F. oxysporum*. Установили условия хроматографического разделения: провели подбор системы растворителей и режима градиентного элюирования. Из наиболее перспективного по содержанию активных компонентов экстракта, полученного с помощью петролейного эфира, препаративно выделили три основных компонента. Структуру уточняли, основываясь на данных масс-спектрологии.

4.11. МОДЕЛИРОВАНИЕ САМОСБОРКИ НАНОЧАСТИЦЫ НА ОСНОВЕ КОНСТРУКТА С γ -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

Машиуров С.Д.^{1,2}, Димитрева В.А.^{1,2}, Олейников В.А.^{1,2}, Залыгин А.В.^{1,3}

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

²Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ", Москва

³Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, Москва
sermas1908@gmail.com

Классические химиотерапевтические препараты имеют множество недостатков. Системы таргетной доставки лекарств могут нивелировать многие из них.

В данной работе рассмотрена самосборка мицеллоподобной наночастицы, состоящей из молекул γ -CD-CMG(4)lin-DOPE, методом молекулярной динамики с помощью программного пакета GROMACS версии 2023.3 и силовым полем для крупнозернистого моделирования MARTINI v2.1. Данная молекула относится к функциональным спейсерным липидам. Функциональная группа представлена γ -циклодекстрином (γ -CD) - циклический олигомер глюкозы, обладающий гидрофобной внутренней полостью. Спейсер представлен в виде CMG, который является модифицированным олигоглицином. В качестве липидного хвоста был выбран DOPE (1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine). Была произведена полноатомная сборка модели и получено её крупнозернистое отображение.

Были созданы две стартовые структуры. В обоих случаях система была уравновешена в NVT и NPT ансамблях. Траектория движений молекул была рассчитана при моделировании системы продолжительностью 100 нс с временным шаг 175 фс.

Первая стартовая структура - параллелепипед со сторонами 24*15*15 нм, в котором находятся 75 молекул, расположенных в упорядоченном положении, и растворитель: вода и ионы NaCl в концентрации 0,15 моль/л. В результате молекулы соединились в системы, состоящие из 2-8 молекул. Молекулы могли не образовать мицеллоподобную наночастицу из-за того, что гидрофобные хвосты находились слишком далеко друг от друга.

Вторая стартовая структура - кубическая ячейка со стороной 24 нм, в которой находятся 100 изучаемых молекул, расположенных в хаотичном положении, и тот же растворитель. В результате молекулы подверглись высокой степени агрегации. Получившаяся структура имеет неправильную форму и максимальный пространственный размер 17 нм. Это может быть связано со свойствами γ -циклодекстрина.

Для получения наночастиц требуется подбор корректной стартовой структуры и экспериментальная проверка.

4.12. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ПРОДУЦИРУЕМЫХ ШТАММОМ ГРИБА *Emericellopsis* sp.

Мионов И.В., Соколов В.В., Кисиль О.В., Прохоренко И.А., Кудрякова Г.Х., Кожина Е.В., Симонов А.Ю., Левшин И.Б., Садыкова В.С.

Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе, Москва
mircenall@gmail.com

Грамотрицательные бактериальные инфекции представляют значительную угрозу для здоровья человека. Защитная внешняя мембрана этих микроорганизмов делает их менее уязвимыми для распространенных антимикробных препаратов, что создаёт острую необходимость в разработке новых веществ. Грибы рода *Emericellopsis* хорошо известны своей способностью продуцировать биоактивные антимикробные пептиды, эффективно противодействующих патогенным микроорганизмам, а широкое распространение в различных экосистемах позволяет рассматривать их в качестве перспективных источника новых биологически активных соединений. Выбранный для дальнейшего исследования штамм принадлежит к роду *Emericellopsis* с неопределённой видовой принадлежностью (*Emericellopsis* sp.)

Культуры выращивали в колбах Эрленмейера на шейкере при 105 об/мин при 25°C. Для получения антибиотических веществ культуральную жидкость (КЖ) продуцентов экстрагировали трижды этилацетатом в соотношении органический растворитель/КЖ 1:5. Полученные экстракты упаривали в вакууме на роторном испарителе при температуре 42°C, остаток растворяли в водном 70% этаноле. Хроматографическое разделение проводилось в линейном градиенте ацетонитрила в воде от 5% до 95%.

Таким образом, была выявлена серия из 11 характерных пиков, каждый из которых был собран методом хроматографического разделения в аналогичном градиенте.

В результате, было установлено, что вещества, соответствующие пикам № 3, 4, 6, 10, 11 проявляют активность в отношении *E. coli*, что позволяет рассматривать штаммы *Emericellopsis* sp. в качестве потенциального продуцента антибактериальных препаратов.

4.13. КОНСТРУИРОВАНИЕ ДНК-АПТАМЕРОВ К EGFR - ОНКОМАРКЕРУ ГЛИОМ

Моисеенко В.Л.^{1,2}, Антипова О.М.^{1,2}, Рыбина А.А.¹, Мухаметова Л.И.¹,
Ерёмин С.А.¹, Павлова Г.В.^{2,3}, Копылов А.М.^{1,2}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва

²НМИЦ нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко, Москва

³Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва
valerian.moiseenko@gmail.com

Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) - один из онкомаркеров опухолей головного мозга. Описано более 20 анти-EGFR аптамеров, полученных разными методами селекции. Их аффинность оценена различными методами, что затрудняет сравнение их свойств. Конструирование аптамеров для адаптации к белку-мишени требует унификации методов сравнения их свойств.

В работе использованы ДНК-аптамеры двух семейств - U31 и U2, описанных в литературе [1], и их авторские производные GR20 [2], U2s и Gol1 [3]. Аффинность к рекомбинантному белку EGFR измеряли поляризацией флуоресценции FAM-меченых аптамеров (равновесный метод в растворе) и интерферометрией биослоев с иммобилизованными аптамерами (кинетический метод на поверхности) [4].

Набор аптамерных конструкций позволил проверить гипотезы о влиянии участков вторичной структуры аптамеров на взаимодействие с EGFR. Небольшие изменения структуры аптамеров могут приводить к кратному изменению аффинности. Полученные при титровании белком численные значения равновесных констант диссоциации $K_{д}$ сами по себе не могут являться единственным критерием для сравнения аффинности аптамеров. Важно учитывать амплитуду и кривизну кинетических кривых ассоциации и диссоциации, а также удельную активность белка-мишени.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение №075-15-2024-561 от 24.04.2024 г.).

Литература

1. Wu X, Liang H, Tan Y, et al. PLoS One. 2014; 9(6):e90752.
2. Zavyalova E, Turashev A, Novoseltseva A, et al. Nucleic Acid Ther. 2020; 30(3):175-187.
3. Il'in V, Pyzhik E, Balakhonov A, et al. Molecules. 2023; 28(1):294.
4. Moiseenko V, Antipova O, Rybina A, et al. Biochemistry (Mosc). 2024; 89(12) - принята к печати.

4.14. СИНТЕЗ ГИДРОКСИХРОМАНОНОВ И БЕНЗОФУРАНОНОВ ИЗ ПРОИЗВОДНЫХ 2-(2-ФОРМИЛФЕНИЛОКСИ)УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ

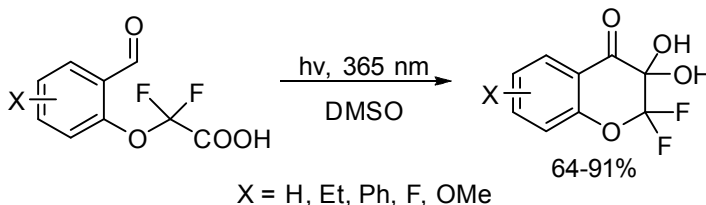
Опрышко В.Е.^{1,2}, Смирнов А.Ю.¹

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

²Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва

victoriaopryshko@mail.ru

Концепция зеленой химии подразумевает разработку химических превращений и процессов, сводящих к минимуму использование и образование неэкологичных веществ. Также важной ее частью являются атомарно-экономичные процессы, при которых образование продуктов происходит с полным сохранением атомного состава. В связи с этим, фотохимические процессы простых молекул, протекающие в отсутствие фотокатализаторов, являются перспективной областью для исследований. Ранее мы показали, что 2-аллилоксибензальдегиды подвергаются фотоциклизации с образованием циклопропанолов. Мы решили исследовать возможности применения в аналогичных превращениях электронакцепторных групп. Как оказалось, 2-(2-формилфенилокси)уксусная кислота в ДМСО при облучении светодиодом с длиной волны 365 нм превращалась в производное 3-гидроксихромона.



Схожий процесс протекал и с производными дифторуксусной кислоты. В результате работы нами с хорошими выходами была синтезирована большая группа гидроксихромонов с различными заместителями, что показало универсальность данного подхода. Результаты данного исследования опубликованы в журнале *Organic & Biomolecular Chemistry*.

4.15. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ И РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ СОЗДАНИЯ ГЛИКОЗИДНОЙ СВЯЗИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПУРИНОВ

Платов Д.А.^{1,2}, Конкина М.А.^{1,2}, Козлова А.А.², Дреничев М.С.²,
Алексеев К.С.²

¹МИРЭА - Российский технологический университет, Москва

²Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва
dim.platoff@yandex.ru

Модификация природных соединений является высокопродуктивным подходом для создания новых прототипов лекарственных средств. На сегодняшний день пурин рассматривается как наиболее перспективный синтон среди гетероциклических соединений для получения биологически активных соединений. Это объясняется как наличием ароматического ядра, способного связываться с гидрофобными областями белка, так и наличием различных функциональных групп (аденин, гипоксантин, ксантин и гуанин) с возможностью их дальнейшей модификации, которые, в свою очередь, способны образовывать сеть водородных связей с белками. Примеры такого многоточечного связывания можно найти при анализе комплексов с нуклеозидами и нуклеотидами ферментов биосинтеза нуклеиновых кислот (нуклеазы, полимеразы, нуклеозидфосфорилазы и др.). В настоящей работе были изучены химические и ферментативные методы создания гликозидной связи производных пурина. Был проведен химический синтез новых углеводных синтонов, содержащих разные ортогональные защитные группы и получен ряд дисахаридных пуриновых нуклеозидов. Изучение региоселективности и подбор условий реакции фосфорилирования частично защищенных дисахаридных нуклеозидов позволил провести введение фосфатного остатка по свободной 5'-ОН группе. Ферментативные методы создания гликозидной связи дополняют химические и обладают рядом преимуществ (высокая региоселективность, экологичность, рентабельность). В работе были изучены условия реакции ферментативного трансгликозилирования различных модифицированных пуринов, катализируемой ферментами класса пентозилтрансфераз (ПНФ (КФ 2.4.2.1) и НДТ II (КФ 2.4.2.6)). Полученные соединения представляют интерес для изучения биологической активности и механизмов действия нуклеозидов, содержащих дополнительный углеводный или липофильный фрагмент.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 24-24-00542).

Литература

1. P. Ertl, S. Jelfs, J. Muhlbacher, A. Schuffenhauer, P. Selzer. Quest for the Rings. In Silico Exploration of Ring Universe To Identify Novel Bioactive Heteroaromatic Scaffolds. J. Med. Chem. 49, 4568-4573, 2006.

4.16. АРИЛИДЕН-ИМИДАЗОЛОНЫ С ТРЕМЯ ДОНОРНЫМИ ЗАМЕСТИТЕЛЯМИ КАК ФЛУОРОГЕННЫЕ КРАСИТЕЛИ ДЛЯ МЕЧЕНИЯ АДИПОСОМ

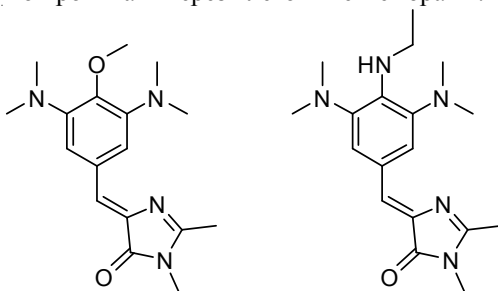
Рудик Д.И.^{1,2}, Богданова Ю.А.², Баранов М.С.²

¹Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, Москва

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

rudikdany@gmail.com

Флуоресцентное окрашивание при помощи малых молекул - быстрый и удобный способ визуализировать клеточные структуры в живых клетках. Особый интерес вызывают флуорогенные метки, характеризующиеся большей селективностью в отношении клеточных органелл, по сравнению с классическими флуоресцентными красителями. Подобные соединения не проявляют флуоресцентных свойств в свободном виде и флуоресцируют только в условиях специфического окружения. Среди таких соединений стоит отметить арилиден-имидазолон, которые являются аналогами хромофора зеленого флуоресцентного белка. Данные соединения характеризуются широким спектром окрасок, умеренной растворимостью в водных средах и способностью проникать через клеточные мембраны.



Нами было синтезировано два новых красителя из класса арилиден-имидазолонов, содержащих в арильном фрагменте три электронодонорных заместителя. Введение дополнительных донорных заместителей может кардинально изменить фотофизические свойства, например, сместить спектры поглощения и эмиссии в длинноволновую область или усилить сольваохромизм. Была изучена возможность специфического окрашивания на примере клеточных линий HeLa Kyoto и Huh 7.5. Было обнаружено, что синтезированные соединения селективно окрашивают липидные капли.

4.17. ТЕХНОЛОГИЯ СМФ-ЦИТОБЛОКАДЫ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ МАГНИТНО-ПОЛИМЕРНЫХ НАНОЧАСТИЦ

Светлакова А.В., Коваленко В.Л., Сизиков А.А., Шипунова В.О.

Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Институт биофизики будущего, Долгопрудный
Svetlakova.av@phystech.edu

Применение нанотехнологий для терапии и диагностики онкологических заболеваний является перспективным подходом в современной онкологии. Наночастицы на основе сополимера молочной и гликолевой кислот (PLGA) являются биосовместимыми, биodeградируемыми и уже активно применяются в клинической практике для диагностики и терапии различных заболеваний. Среди широкого разнообразия наноструктур для биомедицины также отдельного внимания заслуживают магнитные наночастицы за счёт возможности бесконтактного управления перемещениями за счет внешнего магнитного поля. Включение магнетита в PLGA-матрицу способствует снижению его системной токсичности и способствует контролируемому управлению биораспределением. Декорирование наночастиц распознающими молекулами обеспечивает селективное воздействие на раковые клетки. Но, несмотря на перспективность адресной доставки наноагентов в области биомедицины, использование наночастиц имеет свои ограничения, в частности, быстрое выведение наночастиц из организма значительно снижает эффективность их применения и не позволяет им накопиться в опухоли в достаточном для терапевтического эффекта количестве. Возможным путем решения данной проблемы является цитоблокада мононуклеарной фагоцитарной системы, СМФ-цитоблокада, - метод, позволяющий значительно продлить циркуляцию в кровотоке практически любых наноагентов. В данной работе были синтезированы магнитно-полимерные наночастицы, нагруженные фототермическим красителем IR783. Синтезированные частицы были декорированы полипептидом, селективно распознающим рецептор HER2, являющийся клинически значимым онкомаркером. Было изучено влияние СМФ-цитоблокады на эффективность накопления наночастиц в опухоли. Методом МРQ-цитометрии были количественно исследованы параметры накопления адресных наноструктур в HER2-положительных опухолях и показано, что СМФ-цитоблокада значительно увеличивает накопление адресных наноструктур в опухоли. Таким образом, данное исследование играет важную роль в определении влияния продления времени циркуляции наночастиц в организме на накопление их в опухоли, а также показывает перспективность применения технологии СМФ-цитоблокады для лечения и диагностики онкологических заболеваний.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ № 22-73-10141.

4.18. ПОДЛОЖКИ НА ОСНОВЕ СЕРЕБРЯНЫХ НАНОПРОВОЛОК ДЛЯ УСИЛЕНИЯ РАМАНОВСКИХ СПЕКТРОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ

Стинская К.Б.^{1,2,3,4}, Белицкая Е.Д.², Филиппова Ю.А.¹, Залыгин А.В.^{2,3},
Олейников В.А.²

¹Московский педагогический государственный университет, Москва

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

³Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, Москва

⁴Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва

ks.stinskaya@gmail.com

Наиболее эффективным способом усиления сигнала комбинационного рассеяния (КР) является размещение молекулы в непосредственной близости к наночастицам благородных металлов. Существует два основных подхода для достижения этого эффекта. Первый метод включает установку наночастицы на поверхность иглы атомно-силового микроскопа, что позволяет зондировать исследуемые молекулы и регистрировать сигнал КР. Второй метод заключается в размещении исследуемых молекул на поверхности наноструктурированных подложек, после чего КР регистрируется традиционным способом. Этот метод называется гигантским комбинационным рассеянием (ГКР) или рамановской спектроскопией. В данной работе рассмотрена возможность применения подложек на основе серебряных нанопроволок для ГКР спектроскопии биологических образцов. Для получения нанопроволок серебро осаждали в диэлектрический шаблон, полимерную трековую мембрану, которая позволяет задавать направление роста структуры. Затем, используя слои серебра и меди, предварительно нанесенные на мембрану, в качестве катода, серебро электрохимически осаждали в порах полимерной мембраны. Процесс осаждения проводился в двухэлектродной электрохимической ячейке при комнатной температуре с нерастворимым платиновым анодом и временем осаждения от 250 до 550 с, с шагом в 100 с. Полученные структуры были подвергнуты травлению раствором щелочи для удаления полимерного шаблона. На готовых подложках были измерены спектры белка цитохрома С с концентрацией 10-5 М. Были выявлены пики: 748 см⁻¹, 912 см⁻¹, 1127 см⁻¹, 1170 см⁻¹, 1219 см⁻¹, 1312 см⁻¹, 1361 см⁻¹, 1393 см⁻¹, 1498 см⁻¹, 1581 см⁻¹. Интенсивность самого высокого пика достигала порядка 4500, что в 800 раз больше, чем у образца цитохрома С без ГКР-подложки. По результатам проделанных экспериментов можно сделать вывод, что предложенные подложки могут применяться для усиления сигнала комбинационного рассеяния для детекции различных веществ при малых концентрациях.

Работа выполнена в рамках темы госзадания Министерства просвещения РФ № 122122600055-2.

4.19. ПОДБОР СИСТЕМЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЛИЯНИЯ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ И АНТИБИОТИКОВ НА БАКТЕРИАЛЬНУЮ МЕМБРАНУ

Сыровой А.С., Дорошенко В.А., Калганова А.И., Терехов С.С.

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

На сегодняшний день бактериальные инфекции представляют большую угрозу современному человеку, поэтому поиск новых антимикробных препаратов является одной из главных задач на сегодняшний день. Мембрана бактериальных клеток является основной мишенью воздействия антимикробных пептидов и антибиотиков. В связи с этим данная работа направлена на поиск оптимальной системы оценки повышения проницаемости мембран бактериальных клеток за счёт действия антимикробных пептидов и антибиотиков.

Методами проточной цитофлуориметрии с использованием непроникающих и потенциалчувствительных красителей удалось зафиксировать снижение активности эффлюксных насосов, пермеабиллизацию и деполяризацию мембраны. В работе использовались штаммы грамположительных микроорганизмов: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* и грамотрицательных: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*. Пермеабиллизация оценивалась с помощью окрашивания PI (Propidium iodide), непроникающего красителя, который при образовании крупных пор в мембране интеркалирует в молекулы ДНК, и NPN (N-phenyl-1-naphthylamine), флуоресцирующий в результате связывания с гидрофобным слоем мембраны. Деполяризацию детектировали оксоноловыми красителями DiBAC₄(3) и DiOC₂(3), в качестве контролей использовали протонаторы (CCCP, DNP) и антибиотики (низин и грамицидин). Наиболее достоверным оказалось использование анионного красителя DiBAC₄(3), так как принцип его работы основан не на смещении флуоресцентного излучения из одной области в другую, а не на возникновении флуоресцентного сигнала при деполяризации мембраны. Также была проверена система с тремя красителями, с помощью которой можно одновременно оценить наличие деполяризации (DiBAC₄(3)), прорыва мембраны (PI) и снижение активности эффлюксных насосов (EtBr). Таким образом, было показано, что методами проточной цитофлуориметрии возможно определить воздействие на клеточную мембрану антимикробных пептидов и антибиотиков.

Исследование выполнено при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2024-536.

СЕКЦИЯ 5 МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УЗНАВАНИЯ БИОМОЛЕКУЛ И ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛОВ В КЛЕТКЕ

5.1. АНТИ-EGFR АПТАМЕР GR20: ОТ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ К ДОСТАВКЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО АГЕНТА В КЛЕТКИ ГЛИБЛАСТОМЫ

*Антипова О.М.^{1,2}, Моисеенко В.Л.^{1,2}, Иванов Б.М.¹, Дзариева Ф.М.³,
Савченко Е.А.², Павлова Г.В.^{2,3}, Пронин И.Н.³, Копылов А.М.^{1,2}*

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

²НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко, Москва

³Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва
antipovachem@gmail.com

Аптамеры сочетают в себе достоинства малых молекул, синтезируемых химически, и моноклональных антител, узнающих мишени. В работе изучали авторский ДНК-аптамер GR20, узнающий рекомбинантный внеклеточный домен рецептора эпидермального фактора роста человека (EGFR*) - онкомаркера глиобластомы (ГБ).

В спектре ¹H ЯМР ДНК-аптамера GR20 детектировали сигналы имино-протонов пар AT и GC, что соответствовало предполагаемой вторичной структуре аптамера GR20. Методом интерферометрии биослоев проведено сравнение аффинности к EGFR* аптамера GR20 с другими анти EGFR аптамерами и с антителами C225: аптамеры уступали в константах скорости ассоциации, но имели сходные с антителами константы скорости диссоциации. Проточной цитофлуориметрией на клетках линии глиобластомы U87 показана возможность детекции нативного EGFR на клетках с помощью аптамера FAM-GR20. Клетки линии A431 с высокой экспрессией EGFR окрашиваются с помощью аптамера FAM-GR20 и детектируются флуоресцентной микроскопией. Аптамер GR20 взаимодействовал с клетками четырех перевиваемых культур опухоли пациентов с ГБ с различными уровнями экспрессии EGFR: 107, 90, G01 и Sus/fp2. Для клеток линии A431, а также культур 107 и Sus/fp2 с помощью аптамера GR20 реализована доставка внутрь клетки нековалентного комплекса с противоопухолевым препаратом доксорубицином.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение № 075-15-2024-561 от 24.04.2024 г.)

5.2. ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ АДРЕСНЫХ МАГНИТНЫХ НАНОАГЕНТОВ ДЛЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ С ПОМОЩЬЮ ТЕХНОЛОГИИ СМФ-ЦИТОБЛОКАДЫ

Шиманская Я.О., Светлакова А.В., Сизиков А.А., Шинунова В.О.

Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Институт биофизики будущего, Долгопрудный
shimanskaia.yo@mipt.ru

Рак молочной железы остаётся лидирующим по заболеваемости и смертности онкологическим заболеванием среди женщин как в России, так и во всем мире. По некоторым данным, в мире в течение всей жизни рак молочной железы диагностируется у каждой 8-ой женщины. В связи с этим в последнее время идёт бурное развитие новых подходов к таргетной терапии злокачественных опухолей, нацеленных на рецептор HER2, часто сверхэкспрессированный в клетках рака молочной железы. Особое внимание заслуживают метод онкотерапии, основанный на адресной доставке противоопухолевых препаратов при помощи наноагентов, как один из наиболее перспективных примеров таргетной терапии. Однако, остро стоит проблема быстрого выведения наночастиц из кровотока, что не позволяет им в полной мере реализовывать свой терапевтический потенциал. Разработанная технология цитоблокады моноклеарной фагоцитарной системы (МФС-цитоблокада) является перспективным подходом к решению данной проблемы.

В ходе исследования были синтезированы наночастицы магнетита, обладающие магнитными свойствами, что обеспечивает контролируемое управление их передвижением при воздействии внешним магнитным полем. Для придания данным наночастицам терапевтических свойств, на них был сорбирован противоопухолевый препарат - доксорубин с крайне высокой эффективностью. Поверхность наночастиц была модифицирована скаффолдовым белком аффибоди, обеспечивающим адресное нацеливание частиц на рецептор HER2 на поверхности клеток опухоли. Селективность взаимодействия адресных наночастиц с HER2+ клетками была подтверждена методом проточной цитометрии. Токсичность полученных наночастиц тестировалась *in vitro* на целевых клетках клеточной линии EMT-HER2, сверхэкспрессирующих рецептор HER2, и нецелевых клетках клеточной линии EMT6/P. *In vivo* эксперименты продемонстрировали значительное продление времени циркуляции наночастиц при применении МФС-цитоблокады, а также более эффективное накопление в опухоли. Таким образом, данное исследование демонстрирует потенциал использования технологии МФС-цитоблокады для повышения эффективности противоопухолевой терапии на основе наноформуляций.

Исследование поддержано РНФ № 24-13-20032 (синтез наночастиц), РНФ № 22-73-10141 (*in vitro* и *in vivo* эксперименты).

СЕКЦИЯ 6

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ ОСНОВЫ ИММУНИТЕТА

6.1. РАЗРАБОТКА МОДЕЛИ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ НА ОСНОВЕ КЛЕТОК КРЫСИНОГО БАЗОФИЛЬНОГО ЛЕЙКОЗА RBL-2H3

Богданова А.С.^{1,2}, Овчинникова Т.В.¹, Богданов И.В.¹

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

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва
contratron@mail.ru

Аллергическая сенсibilизация является ключевым процессом в формировании аллергической реакции организма, в ходе которой происходит первичное взаимодействие организма с аллергеном, сопровождающееся выработкой IgE-антител, которые, в свою очередь, связываются с высокоаффинными рецепторами FcεRI, представленными на поверхности тучных клеток и базофилов. При повторном контакте организма с аллергеном последний связывается с преysуществующими аллерген-специфическими IgE-антителами на поверхности тучных клеток, в результате чего происходит их дегрануляция с высвобождением гистамина.

В данной работе в качестве модельной клеточной линии нами были использованы клетки крысиного базофильного лейкоза RBL-2H3, способные к пассивной сенсibilизации сыворотками мышей и крыс, содержащими аллерген-специфичные IgE, и последующей дегрануляции при добавлении аллергена. Для экспериментов с человеческими сыворотками, полученными от пациентов с аллергией, необходимо было получить клеточную линию, экспрессирующую α-цепь высокоспецифичного рецептора человека FcεRI к антителам класса IgE. Клетки линии RBL-2H3 трансфицировали методом электропорации плазмидой pUNO1-hFcεRIα, кодирующей α-цепь высокоспецифичного рецептора FcεRI под контролем гибридного промотора hEF1-HTLV с последующей селекцией путём добавления 10 μg/ml бластицидина S в течение 2-3 недель. Уровень экспрессии FcεRIα на поверхности клеток RBL-2H3 оценивали методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител FITC anti-human FcεRIα. По результатам оценки были выделены три клона, содержащие на своей поверхности α-цепь рецептора FcεRI. Затем клетки из полученных клонов засевали в ячейки 96-луночного планшета и осуществляли пассивную сенсibilизацию, добавляя к питательной среде сыворотку пациента с высокими титрами IgE к аллергену пыльцы берёзы Bet v 1. Дегрануляцию клеток вызывали добавлением Bet v 1, а степень дегрануляции измеряли по активности фермента β-гексозаминидазы, содержащегося в секретлируемых гранулах.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-75-10116; <https://rscf.ru/project/23-75-10116/>).

6.2. 20-ГИДРОКСИЭКДИЗОН МОДУЛИРУЕТ ИММУННЫЙ ОТВЕТ У *Drosophila*

Гасса М.^{1,2}, Шидловский Ю.В.^{1,3}, Качаев З.М.¹

¹Институт биологии гена РАН, Москва

²Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный

³Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва.

nanaghassa783@gmail.com

Изучение взаимодействия и кооперации гормональной системы с врожденным иммунным ответом представляет собой одно из активно развивающихся направлений в физиологии эукариот. У насекомых экдистероидный гормон 20-гидроксиэкдизон (20E) участвует в множестве биологических процессов, включая регуляцию врожденного иммунного ответа. Ранее было установлено, что 20E в сочетании с грамотрицательными бактериями (Грам(-)) оказывает значительное влияние на активацию ключевых антимикробных пептидов. В данном исследовании мы впервые проанализировали влияние 20E и грамположительных бактерий (Грам(+)) на активацию иммунного ответа. Для достижения этой цели были проведены следующие эксперименты на культуре клеток S2: (1) клетки обрабатывались только 20E в течение 24 часов; (2) клетки предварительно обрабатывались 20E в течение 24 часов и инкубировались в течение 3 часов с *Escherichia coli* (*E. coli*) (контроль), *Micrococcus luteus* (*M. luteus*) и *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*); (3) клетки S2 одновременно обрабатывались 20E и бактериями в течение 24 часов. Наши результаты показали отсутствие значимого влияния отдельно 20E на активацию иммунного ответа. Однако предварительная обработка клеток S2 20E с последующей инкубацией с *E. coli* или *M. luteus* приводила к стимуляции выработки антимикробных пептидов *Diptericin* и *Drosomycin*. Более того, предобработка клеток 20E значительно усиливала экспрессию генов, вовлеченных в Toll- (*Dif*, *Dorsal* и др.) и IMD-пути (*Relish*, IMD и др.) в присутствии *B. subtilis*. Неожиданно, одновременное воздействие 20E на клетки S2 и все три бактерии приводило к подавлению индукции антимикробного пептида *Drosocin*.

Таким образом, результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что 20E в сочетании с Грам(+) бактериями оказывает разносторонние эффекты на активацию генов иммунного ответа, которые зависят от условий инкубации гормона с патогенами. Это оказывает ген- и патоген-специфичный эффект на активацию врожденного иммунного ответа.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 23-14-00348.

6.3. ВЛИЯНИЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ НА ПРОЦЕНТ НЕЙТРОФИЛОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ МЫШИ

Гладкая А.Н.¹, Шевченко М.А.²

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

²ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
gladkaya.a02@gmail.com

Нейтрофилы представляют популяцию иммунных клеток миелоидного происхождения. Они способны эффективно уничтожать как прокариотические, так и эукариотические клетки за счет фагоцитарной активности или высвобождения эффекторных молекул их гранул. Содержание нейтрофилов в крови является важным показателем здоровья. У взрослого человека они составляют 40-70% всех лейкоцитов крови, а у мышей - 20-30%. Для определения и количественного анализа нейтрофилов используется стандартный метод выделения лейкоцитов крови, включающий гемолитическую обработку для удаления эритроцитов, и проточная цитометрия.

Целью работы была оценка влияния процедуры гемолиза эритроцитов на долю нейтрофилов в периферической крови мыши.

Кровь отбирали из хвостовой вены в микропробирку с гепарином, затем обрабатывали гемолизирующим буфером с последующей отмывкой фосфатным буфером. Обработку проводили один, два и три раза, отбирая на каждом этапе образец для анализа. Для идентификации нейтрофилов проводили окрашивание при помощи антител к SiglecF, конъюгированных с PE, и LybG, конъюгированных с APC. Для оценки жизнеспособности выделенных клеток использовался краситель SytoxGreen.

Установили, что с каждой последующей обработкой гемолитическим буфером вместе с уменьшением количества эритроцитов снижается и процентное содержание нейтрофилов. После второй обработки доля нейтрофилов снижается приблизительно на 10% по сравнению с детектированной после однократной обработки. Третья обработка приводила к потере более 44% нейтрофилов по сравнению с однократной обработкой.

Таким образом, проведенное исследование подтвердило, что стандартная процедура выделения лейкоцитов из периферической крови, включающая две гемолитические обработки, является оптимальной для сохранения процента нейтрофилов и элиминации эритроцитов. Однако, при оценке доли нейтрофилов в периферической крови лабораторных животных и человека необходимо принимать во внимание чувствительность этих клеток к гемолитической обработке.

6.4. ОЦЕНКА ПЕРЕКРЕСТНОЙ РЕАКТИВНОСТИ Bet v 1 БЕРЕЗЫ И Gly m 4 СОИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЖИВОТНЫХ МОДЕЛЕЙ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ

Данилова Ю.Д.^{1,2}, Богданов И.В.¹, Овчинникова Т.В.¹, Финкина Е.И.¹

¹ГНЦ РФ Институт 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
finkina@mail.ru

Представители растительных белков класса PR-10 - гомологи основного аллергена пыльцы березы Bet v 1 - являются пыльцевыми и пищевыми аллергенами, вызывающими перекрестные IgE-опосредованные аллергические реакции. Для исследования перекрестной реактивности аллергенов, как правило, используются сыворотки пациентов с аллергией. Интерпретация результатов при этом осложняется возможностью сенсibilизации пациентов обоими из изучаемых аллергенов. В данном исследовании перекрестной реактивности мажорных аллергенов Gly m 4 сои и Bet v 1 березы мы использовали модельных животных, сенсibilизированных одним из этих аллергенов.

Рекомбинантные аллергены Bet v 1 березы и Gly m 4 сои были получены разработанным ранее биотехнологическим способом. Мыши BALB/c были иммунизированы посредством трехкратного подкожного введения растворов одного из аллергенов в низких концентрациях с интервалом в две недели, используя в качестве адьюванта Alum. Вызов аллергических реакций осуществляли двухкратным внутрибрюшинным введением высоких доз Bet v 1 или Gly m 4. Эффективность сенсibilизации подтверждали наличием у животных аллергических реакций и значительным увеличением уровней биосинтеза специфичных IgG1, IgE и IgG2a. Исследование перекрестной реактивности Bet v 1 березы и Gly m 4 сои проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием иммунных сывороток, сенсibilизированных одним из этих аллергенов мышей. Сыворотки преинкубировали с Bet v 1 или Gly m 4 в различных концентрациях, после чего оценивали уровни специфичных IgG1 и IgE. В качестве контроля использовали сыворотки мышей, преинкубированные с BSA. Было показано, что Gly m 4 ингибирует связывание специфичных к Bet v 1 IgG1 и IgE, но хуже, чем сам Bet v 1. Bet v 1 в гораздо меньшей степени ингибировал связывание специфичных к Gly m 4 IgG1 и IgE, а в некоторых случаях ингибирования вообще не наблюдалось. На основе полученных нами было высказано предположение о том, что в случае сенсibilизации аллергеном Bet v 1 из пыльцы березы Gly m 4 может обуславливать развитие перекрестных аллергических реакций при употреблении сои. А в случае сенсibilизации аллергеном Gly m 4 сои маловероятно развитие перекрестных аллергических реакций на Bet v 1 при попадании пыльцы березы.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда №23-75-10116; <https://rscf.ru/project/23-75-10116/>.

6.5. ИЗУЧЕНИЕ РЕПЕРТУАРА КРОСС-РЕАКТИВНЫХ ВИРУС-СПЕЦИФИЧНЫХ В-ЛИМФОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ

Джеслад С.С.¹, Овчинникова Л.А.¹, Симанив Т.О.², Захарова М.Н.², Габитов А.Г.¹, Ломакин Я.А.¹

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

²Научный центр неврологии, Москва
tybien@mail.ru

Рассеянный склероз (РС) - гетерогенное нейродегенеративное аутоиммунное заболевание, поражающее центральную нервную систему (ЦНС) человека. В настоящее время активно обсуждается теория развития заболевания по механизму молекулярной мимикрии. Существует отчетливая корреляция между инфекцией вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ) и риском развития РС [1]. Моноклональные кросс-реактивные антитела, перекрестно связывающие участок антигена ВЭБ EBNA1₃₈₆₋₄₀₅ и фрагмент белка ЦНС GlialCAM₃₇₀₋₃₈₉, были обнаружены в ликворе пациентов с РС [2]. Не смотря на явную корреляцию и активное изучение, роль инфекционных агентов в патогенезе заболевания до конца не ясна. В своем исследовании мы хотим определить вклад РС-ассоциированных антиген-специфичных иммуноглобулинов в развитии заболевания. Мы создали лентивирусные библиотеки антител с правильным сочетанием переменных фрагментов тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов, представляющие собой репертуар периферических В-клеток пациентов с РС и здоровых доноров. Из полученных библиотек с использованием проточной цитометрии был произведен отбор антиген-специфичных иммуноглобулинов, потенциально ассоциированных с развитием РС. В данной работе в дополнение к ранее обнаруженной кросс-реактивной паре EBNA1₃₈₆₋₄₀₅/GlialCAM₃₇₀₋₃₈₉ был добавлен новый пептид ВЭБ LMP₁₇₋₂₆ с гомологичной последовательностью центрального эпитопа. Дополнительно был произведен отбор антител, узнающих MBR₁₇₄₋₁₉₇, MBR₂₁₇₋₂₃₁ и CRYAB₄₋₁₉. Кроме того были отобраны кросс-реактивные иммуноглобулины, связывающие сразу несколько вышеописанных антигенов. Отобранные моноспецифические и кросс-реактивные иммуноглобулины, были реконструированы в виде полноразмерных IgG человека и охарактеризованы по степени связывания с панелью РС-ассоциированных антигенов методом иммуноферментного анализа. Обнаруженные в данной работе новые кросс-реактивные пары антигенов и анализ моноклональных антител, специфичных к данным антигенам, позволят лучше прояснить механизм участия ВЭБ в развитии РС.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 22-14-00219.

Литература

1. Vjornevik K. et al. Longitudinal analysis reveals high prevalence of Epstein-Barr virus associated with multiple sclerosis // Science. 2022. Vol. 375, № 6578. P. 296-301.
2. Lanz T.V. et al. Clonally expanded B cells in multiple sclerosis bind EBV EBNA1 and GlialCAM // Nature. 2022. Vol. 603, № 7900. P. 321-327.

6.6. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МУТАЦИЙ В N-КОНЦЕВОМ ДОМЕНЕ ГЛИКОПРОТЕИНА Spike НА ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ И ИММУНОГЕННЫЕ СВОЙСТВА РАЗНЫХ ВАРИАНТОВ ВИРУСА SARS-CoV-2

Ермолаева Е.А.¹, Зырина А.Н.¹, Козловская Л.И.^{1,2}, Сиразова Д.И.¹, Лунин А.С.¹, Иванов С.В.¹, Шмельёва О.А.¹, Шишова А.А.^{1,2}

¹ФНЦ исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита), Москва

²Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва
le.ermolaeva@mail.ru

Коронавирусы - группа вирусов, способных инфицировать множество различных млекопитающих, в том числе вызывать легкие и тяжелые респираторные заболевания человека. В 2019 году в городе Ухань был обнаружен SARS-CoV-2. В 2020 году, в связи с высокой контагиозностью, вирус распространился за пределы Китая по всему миру, что привело к началу пандемии. Несмотря на ее окончание, люди по всему миру продолжают заражаться SARS-CoV-2.

SARS-CoV-2 является оболочечным вирусом. Слияние вирусного бислоя с мембраной клетки- мишени опосредуется кодируемым тримерным белком Spike. Этот белок является главной мишенью нейтрализующих антител. В связи с этим изучение мутаций в участке генома, кодирующем Spike белок новых вариантов SARS-CoV-2 является актуальным. Мы сосредоточились на изучении мутаций в N-терминальном домене белка Spike SARS-CoV-2 и их влиянии на антигенные характеристики вируса и его патогенные свойства на животной модели.

В нашей работе мы получили два варианта вируса SARS-CoV-2 (Delta small plaque (s.p.) и Delta big plaque (b.p.)), отличавшихся фенотипически (бляшечный фенотип на культуре клеток *Vero*). В результате секвенирования двух полученных вариантов вируса мы нашли неописанную ранее вставку из 12 нуклеотидов, приводящую к появлению новых 5 аминокислот в последовательности N-концевого домена белка Spike варианта Delta s.p. Было показано, что наличие обнаруженной вставки влияет на распознавание полученного варианта Delta s.p. моноклональными антителами scFv-Fc к Spike белку SARS-CoV-2 в иммуноферментном анализе, а также в реакции нейтрализации. Кроме того, были отмечены различия в патогенезе полученных гомогенных вариантов Delta SARS-CoV-2 на модели сирийского хомяка. Эксперимент *in vivo* продемонстрировал статистически значимое различие вирусной нагрузки в группах, инфицированных полученными вариантами, на 2 и 3 дни после заражения, а также статистически значимую разницу в потере веса между группами животных с 4-го дня эксперимента.

6.7. ПОИСК НОВЫХ АУТОАНТИГЕНОВ ПРИ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ

Ермолаева Е.О.^{1,2}, Курбацкая И.Н.¹, Захарова М.Ю.¹, Ишина И.А.¹

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

²Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный
sosedskaia.eo@phystech.edu

Системная красная волчанка (СКВ) - это аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся системным поражением соединительной ткани и её производных. Известно, что в развитии СКВ важную роль играет носительство определённых аллелей генов главного комплекса гистосовместимости II класса (МНС II), в частности локуса HLA-DRB1. Ключевым звеном аутоиммунного процесса считается презентация на молекулах МНС II фрагментов собственных антигенов CD4+ Т-клеткам, что и приводит к аутореактивному иммунному ответу. Целью данной работы являлся поиск новых аутоантигенов, представленных на аллели HLA-DRB1*15:01, у больных СКВ. В ходе работы были собраны генетические конструкции 4-х вариантов Т-клеточных рецепторов (TCR), последовательности которых были ранее идентифицированы у больного СКВ. Для получения стабильных клеточных линий, экспрессирующих на своих мембранах отобранные TCR, была проведена лентивирусная трансдукция клеточной линии Jurkat 76 TPR, характеризующаяся экспрессией GFP в ответ на активацию Т-клеток. Трансгенные клеточные линии инкубировали с внеклеточными везикулами (ВВ), несущими комплексы “потенциальный аутоантиген-HLA-DRB1*15:01” и костимулирующие молекулы CD80. Потенциальные пептидные аутоантигены, связывающиеся с аллелью HLA-DRB1*15:01, были отобраны из ранее полученной библиотеки аутоантигенных пептидов методами фагового дисплея. Активацию Jurkat 76 TPR TCR⁺ отслеживали путем оценки экспрессии GFP и с помощью маркера ранней активации CD69 методом проточной цитофлуометрии. В результате все четыре трансгенные клеточные линии ответили на стимуляцию ВВ, несущими белок рецептора инсулина, что указывает на его потенциальное участие в развитии СКВ. Кроме того, наблюдался дозозависимый эффект активации - увеличение количества ВВ увеличивало количество GFP-позитивных клеток.

Данное исследование проведено при поддержке проекта Министерства науки и высшего образования РФ № 075-15-2024-536.

6.8. ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ РАЗЛИЧИЯ В УРОВНЕ АКТИВАЦИИ НК-КЛЕТОК ПОД ДЕЙСТВИЕМ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПЕПТИДОВ ПРЕДПОЛАГАЮТ НАЛИЧИЕ АНТИГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКОГО ОТВЕТА

Заика Е.А.^{1,2}, Устюжанина М.О.^{1,3}, Вавилова Ю.Д.¹, Черткова А.А.^{1,2}, Коваленко Е.И.¹

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

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

³Сколковский институт науки и технологий, Центр наук о жизни, Москва
lizzaika@yandex.ru

НК-клетки, относящиеся к врождённому иммунитету, могут формировать ответы, похожие на реакции иммунологической памяти. Возможную роль в этих процессах могут играть иммуноглобулин-подобные рецепторы клеток-киллеров (KIR), которые связываются с молекулами HLA-I и регулируют активность НК-клеток. Роль активирующего рецептора KIR2DS4 в формировании антиген-специфического ответа остаётся малоизученной. Целью данной работы было изучение функциональной активности НК-клеток доноров, экспрессирующих KIR2DS4, при стимуляции бактериальными пептидами.

НК-клетки выделяли из мононуклеаров периферической крови здоровых доноров с помощью отрицательной магнитной сепарации. В качестве антиген-презентирующих клеток использовали облучённые клетки В-лимфобластоидной линии Raji, несущие аллель HLA-C*04. Для стимуляции НК-клеток использовали пептиды IVDKSGAWL (L) и IVDKSGAWF (F) из *Helicobacter pylori* и *Campylobacter jejuni*, соответственно. Одну часть НК-клеток культивировали 16 ч с клетками Raji без каких-либо пептидов, с L, и с F пептидами, вторую часть НК-клеток культивировали в тех же условиях, но в течение недели. Методом проточной цитометрии были исследованы доля активированных НК-клеток (по наличию HLA-DR и CD69), доля продуцирующих IFN- γ НК-клеток, и уровень дегрануляции по CD107A. Через неделю оценили жизнеспособность клеток. Исследуемые параметры показали, что ответ НК-клеток варьируется в зависимости от донора.

Выявлено увеличение экспрессии HLA-DR при инкубировании с пептидом F, увеличение экспрессии CD69 \rightarrow при инкубации с L у ряда доноров, а доля дегранулирующих клеток и синтезирующих IFN- γ незначительно увеличилась при инкубировании НК-клеток с пептидами у других доноров. Через 7д наблюдалась повышенная жизнеспособность в образцах с L пептидом, по сравнению с F, в то время как НК-клетки без пептидов подверглись клеточной гибели. Таким образом, в данной работе была показана вариативность ответа НК-клеток, предполагающая наличие клеточной памяти у НК-клеток на бактериальный патоген, через активацию KIR2DS4 у некоторых доноров.

Работа поддержана грантом РФФ № 24-75-10136.

6.9. УГЛЕВОДНЫЕ КСЕНОАНТИГЕНЫ НА КЛЕТКАХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ

Липатников А.Д.¹, Полякова С.М.¹, Чепанов С.В.², Бовин Н.В.¹, Шилова Н.В.^{1,3}

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

²НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург

³НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Минздрава России, Москва
alex.9508@yandex.ru

Иммортализованные человеческие клеточные линии используются для проведения широкого спектра исследований в области молекулярной биологии и биохимии, позволяя варьировать множество параметров эксперимента в зависимости от поставленных задач, в том числе при определении цитотоксического действия различных биологических молекул.

В рамках исследования роли антигликановых антител (АГАТ) в человеческом организме (в частности их участия в процессах, связанных с гибелью клеток), нами была изучена специфичность АГАТ сыворотки крови, связавшихся с клетками клеточных линий аденокарциномы толстой кишки HT-29 и эндотелиальной ткани EA.hy926. В результате преобладающими оказались антитела против ксеноантигенов Galili (известного как α Gal-антиген) и гликолилнейраминовой кислоты Neu5Gc - углеводов, не характерных для клеток человека, и которые не синтезируются в них *de novo*.

Появление этих ксеноантигенов, по-видимому, связано с использованием фетальной сыворотки быка (ФСБ) в культуральных средах, что подтверждается литературными данными: известно, что сиалилтрансферазы способны встраивать Neu5Gc, поступающую в клетки из продуктов животного происхождения, в углеводные цепи гликолипидов и гликопротеинов. Таким образом, углеводные ксеноантигены - компоненты ФСБ - меняют состав гликокаликса, что вероятно отличает клетки от существующих в организме человека. Влияние их на биохимические процессы в клетке (в первую очередь связанные с углевод-белковым распознаванием) пока не ясно.

Подбор условий культивирования (например, использование xeno-free среды, способной обеспечивать не только пролиферацию, но и правильную дифференцировку клеток клеточных линий) позволит получить клеточные линии, максимально приближенные к клеткам человеческого организма, а также будет полезен и при работе с материалом для клеточной терапии.

6.10. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ АКТИВАЦИИ И ИНГИБИРОВАНИЯ ГАМК_A-РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ВОСПАЛЕНИИ

Михайленко А.Д.¹, Кудрявцев Д.С.²

¹Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, Москва

²ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
nastya2003m12nastya@gmail.com

Рецепторы γ -аминомасляной кислоты типа А (ГАМК_A) относятся к цис-петельным рецепторам, лиганд-управляемым хлорным каналом. В структуру каждого рецептора входит 5 субъединиц из 19 возможных: шесть α ($\alpha 1-6$), три β ($\beta 1-3$), три γ ($\gamma 1-3$), три ρ ($\rho 1-3$) и по одной из δ , ϵ , π и θ [1]. Из литературы известно, что активация ГАМК_A-рецепторов приводит к ингибированию пролиферации Т-хелперов и воспалительные реакции антигенпрезентирующих клеток и, стимулирует пролиферацию регуляторных лимфоцитов [2].

В данной работе в качестве модельной клеточной линии была выбрана моноцитарная линия ТНР1. Экспрессия мРНК генов субъединиц ГАМК_A-рецепторов исследовалась на клетках в трёх состояниях: неактивированном (моноциты), при активации РМА (макрофаги М0), после активации классическим путем с помощью LPS (липополисахарид) (провоспалительные макрофаги М). В качестве лигандов для ГАМК_A-рецепторов были использованы ортостерические агонисты ГАМК и мусцимол, неспецифический антагонист пикротоксин и селективный положительный модулятор δ -содержащих рецепторов DS-2 и их комбинации между собой. Степень экспрессии субъединиц определялась методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в реальном времени.

В ходе работы выяснилось, что клетки во всех исследованных состояниях имеют ГАМК_A-рецепторы с субъединицами $\alpha 3$ и $\alpha 4$. На макрофагах М0 были также обнаружены $\beta 1$ и δ . На клетках макрофагов М1 была обнаружена субъединица δ . На неактивированных клетках моноцитов ТНР1 были выявлены дополнительно субъединицы $\beta 2$ и δ . Активация рецепторов ГАМК усилила экспрессию мРНК $\alpha 3$, $\alpha 4$ и δ .

В будущем данные результаты могут быть полезны при рассмотрении возможности применения лигандов ГАМК_A-рецепторов в лечении воспалительных заболеваний.

Литература

1. GABAA receptors: structure, function, pharmacology, and related disorders / A. Ghit, D. Assal, A. S. Al-Shami, D. E. E. Hussein // Journal of Genetic Engineering and Biotechnology 2021. № 19 (1).
2. Tian J., Kaufman D.L. The GABA and GABA-Receptor System in Inflammation, Anti-Tumor Immune Responses, and COVID-19. // Biomedicines 2023. №11.

6.11. ВЫЯВЛЕНИЕ АУТОАНТИГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Нечаева А.М., Курбацкая И.Н., Мамедов А.Э., Габипов А.Г.

ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
alinancechaeva500@gmail.com

Ревматоидный артрит (РА) - одно из наиболее распространенных аутоиммунных заболеваний, которое проявляется воспалением суставов и эрозией костей. Предполагается, что причиной развития РА является сочетание факторов внешней среды и генетической предрасположенности. К генетическим факторам относится носительство аллелей HLA-DRB1*01:01 (DR1) или HLA-DRB1*04:01 (DR4) главного комплекса гистосовместимости (HLA) II класса. HLA II класса участвует в презентации антигена для CD4+ Т-клеток и может способствовать развитию иммунного ответа на аутоантигены благодаря своей способности связывать специфические артритогенные пептиды. Аллели DR1 и DR4 имеют общий аминокислотный мотив в гипервариабельной области цепи DR β - общий эпитоп. Значимым для понимания молекулярных механизмов развития РА и возможной разработки таргетных лекарственных препаратов является поиск новых аутоантигенов, связывающихся с DR1 или DR4. В качестве потенциальных аутоантигенов, на основе анализа масс-спектров иммунопептидомов больных РА-носителей соответствующих аллелей (DR1 или DR4), были выбраны 5 пептидных последовательностей: B2MG (Beta-2-Microglobulin), PD1L1 (Programmed cell death 1 ligand 1), CO1A1 (Collagen alpha-1(I) chain), ROA2 (Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1), VIP (Endoplasmic reticulum chaperone BiP). Основой для клонирования генетических конструкций выбранных пептидов служил вектор pET32CH, экспрессия проводилась в клеточной культуре BL21DE3. Полученные пептиды, слитые с белком-носителем тиоредоксином, очищали при помощи металл-хелатной хроматографии. Анализ связывания пептидов с DR1 и DR4 проводился при помощи иммуноферментного анализа (ELISA) [1]. По результатам анализа было подтверждено связывание фрагмента пептида VIP с DR4, что делает его потенциальным аутоантигеном при РА.

Литература

1. Mamedov, A., Vorobyeva, N., Filimonova, I., Zakharova, M., Kiselev, I., Bashinskaya, V., ... Belogurov, A. (2020). Protective Allele for Multiple Sclerosis HLA-DRB1*01:01 Provides Kinetic Discrimination of Myelin and Exogenous Antigenic Peptides. *Frontiers in Immunology*, 10.

6.12. ОСОБЕННОСТИ ПРЕЗЕНТАЦИИ АНТИГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ, НА МНС II

Никонова А.В.^{1,2}, Курбацкая И.Н.¹, Зиганшин Р.Х.¹, Захарова М.Ю.¹,
Ишина И.А.¹

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

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва
avn2001@yandex.ru

Ревматоидный артрит (РА) - мультифакторное системное воспалительное заболевание соединительной ткани аутоиммунной природы, характеризующееся поражением периферических суставов. Генетический фактор риска развития РА, обусловлен аллельными вариантами генов главного комплекса гистосовместимости второго класса (МНС II). Целью данной работы является определение новых аутоантигенных пептидов ассоциированных с развитием РА, представленных в комплексе с HLA-DRB1*01:01 и HLA-DRB1*04:01. Аутоантигенные пептиды, потенциально принимающие участие в развитии РА, были ранее обнаружены с помощью масс-спектрометрического анализа иммунопептидома МНС II антигенпрезентирующих клеток больных РА, несущих аллели HLA-DRB1*01:01 и HLA-DRB1*04:01. В качестве контроля также был проанализирован иммунопептидом здоровых доноров, несущих аллели HLA-DRB1*01:01 и HLA-DRB1*04:01. В результате анализа был найден 41 пептид, относящийся к аутоантигенным белкам, потенциально ассоциированным с риском развития РА. Из полученного пептидного репертуара 27 РА-ассоциированных пептидов были представлены только в иммунопептидоме больных РА. Далее был проведен анализ связывания 27 пептидов с молекулами HLA-DRB1*01:01 и HLA-DRB1*04:01 в присутствии или отсутствии каталитического шаперона HLA-DM, иммунопреципитация на иммуноаффинной колонке с ковалентно связанным антителом L243 и последующим анализом методом масс-спектрометрии. Пептиды, продемонстрировавшие наибольшее связывание с HLA-DRB1*01:01 и HLA-DRB1*04:01 были получены в виде фьюжн-белков, слитых с бактериальным тиоредоксином, их связывание с МНС II было проанализировано методом твердофазного иммуоферментного анализа для подтверждения результатов с масс-спектрометрии.

Данное исследование проведено при поддержке проекта Министерства науки и высшего образования РФ № 075-15-2024-536.

6.13. ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА У КРЫС ЛИНИЙ DA И SD

Орлова Д.А., Кудряева А.А., Чернов А.С., Белогуров А.А.

ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
dorlova01@yandex.ru

Травма спинного мозга (ТСМ) представляет собой серьезную медицинскую и социальную проблему. Воспалительный процесс после ТСМ характеризуется сложностью и многокомпонентностью из-за участия различных типов клеток и множества провоспалительных цитокинов. Хроническое воспаление способствует образованию глиального рубца, что препятствует восстановлению функций спинного мозга после травмы. Хотя воспаление после ТСМ может оказывать положительные эффекты, массивная инфильтрация иммунных клеток является ключевым фактором нейродегенерации. Механизм развития воспалительного ответа известен, однако до сих пор ведутся споры касательно точной временной динамики воспаления и о роли отдельных провоспалительных факторов и типов клеток в патогенезе ТСМ.

С использованием метода криоапликации была разработана модель травмы спинного мозга на крысах линий SD и DA. Образцы, полученные от животных, выведенных из эксперимента на различных временных интервалах, были проанализированы для изучения динамики индукции иммунопротеасом, а также изменения профилей цитокинов и хемокинов. В результате проведенных исследований было установлено, что экспрессия субъединиц, характерных для иммунопротеасом, $\beta 5i$, $\beta 1i$ и $\beta 2i$, была повышена к 14-му дню у крыс линии DA и к 7-му дню у крыс линии SD. Экспрессия регуляторных субъединиц PA28 β и PA28 γ достигала своего максимума на 7-14 день после криовоздействия. Дополнительно были проанализированы динамика и локализация системного цитокинового шторма. В поврежденных участках фиксировались значительные концентрации цитокинов и хемокинов, в первую очередь CXCL1, CCL2, CCL3, IL-6, TNF α и G-CSF. В дополнение к проведенному исследованию, мы проанализировали уровень антител к основному белку миелина (myelin basic protein, MBP) в плазме крови крыс линии DA, которым вводили антитело против рецептора CCR4 (могамулизумаб). В группе животных, подвергавшихся лечению, уровень аутоантител к MBP был значительно снижен по сравнению с контрольной группой, не получавшей терапию.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-74-00053.

6.14. СРАВНЕНИЕ НК-КЛЕТОЧНОЙ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ В ГОМОТИПИЧЕСКИХ И ГЕТЕРОТИПИЧЕСКИХ 3D-КУЛЬТУРАХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Фоменко А.Н.^{1,2}, Алексеева Н.А.¹, Вавилова Ю.Д.¹, Алексеева Л.Г.¹,
Коваленко Е.И.¹

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

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва

alexandra.fmnko@gmail.com

Активированные НК-клетки проявляют цитотоксическую активность в отношении опухолей. НК-клеточная терапия солидных опухолей - совершенствующееся направление персонализированной иммуноterapiи. Гомотипические 3D-культуры (гомосфероиды), содержащие один тип клеток, в качестве мишеней приближены к опухолям по строению и качественно превосходят 2D-культуры. Гетеротипические 3D-культуры (гетеросфероиды) с эндотелиальными и стромальными клетками, в большей мере обладают характеристиками опухоли *in vivo*. Неопухолевые клетки моделируют опухолевое микроокружение, изменяющее устойчивость опухолей к НК-клеточному воздействию.

Цель работы - оценить цитотоксическую активность НК-клеток в отношении гомотипических и гетеротипических сфероидных культур опухолей.

В рамках исследования формировали гетеросфероиды опухолевой линии яичников SKOV3, модифицированные флуоресцентным белком *Katushka* (SKOV-Kat), эндотелиальной линии EA.hy926 и фибробластной линии VJ. В качестве контроля использовали гомосфероиды из SKOV-Kat. Активированные НК-клетки из периферической крови здорового донора, инкубировали в течение 4 часов со сфероидами. Оценку цитотоксической активности НК-клеток производили по экспрессии CD107a методом проточной цитометрии. Погибшие клетки определяли позитивным окрашиванием флуоресцентным красителем Sytox.

Базовый уровень гибели SKOV-Kat в гомосфероидах был ниже, чем в гетеросфероидах. При инкубации с ??-клетками уровень гибели SKOV-Kat увеличивается. Эффект был выражен сильнее в гомосфероидах. Также показано, что при инкубации с гомосфероидами большая доля НК-клеток дегранулировала в сравнении с гетеросфероидами. Таким образом, ??-клетки обладают сниженной цитотоксичностью в отношении гетеросфероидов. Охарактеризованная модель гетеросфероидов с опухолевым микроокружением является перспективной для изучения цитотоксичности НК-клеток, в том числе модифицированных.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 24-75-00160).

6.15. АНАЛИЗ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ КРОССРЕАКТИВНЫХ АНТИТЕЛ ПАЦИЕНТОВ С РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ, СВЯЗЫВАЮЩИХ НЕЙРОНАЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Хазеев С.Н., Джелад С.С., Овчинникова Л.А., Ломакин Я.А.

ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
s.khazeev@mail.ru

Рассеянный склероз (РС) - аутоиммунное нейродегенеративное заболевание центральной нервной системы (ЦНС), одним из этиологических факторов которой считается вирусная инфекция. Вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ) является инфекционным агентом, показывающим высокую положительную корреляцию с заболеваемостью РС. Одним из потенциальных механизмов развития РС является молекулярная мимикрия между антигенами ВЭБ и аутоантигенами человека. Кроссреактивные антитела могут играть роль одного из важнейших патогенетических звеньев данного заболевания. Моноклональные антитела, способные одновременно связывать антиген ВЭБ EBNA1³⁸⁶⁻⁴⁰⁵ и фрагмент белка ЦНС GlialCAM³⁷⁰⁻³⁸⁹, а также EBNA1⁴⁰²⁻⁴⁰⁶ и фрагмент малого белка теплового шока CRYAB¹¹⁻¹⁵ были обнаружены у пациентов с РС. В своем исследовании мы провели скрининг потенциально кроссреактивных антител из репертуара больных РС для дальнейшего изучения этиологии и патогенеза данного заболевания.

На основе отобранных последовательностей ДНК были созданы конструкции, кодирующие соответствующие антитела в формате полноразмерных IgG1 человека. Далее они были проэкспрессированы в эукариотической системе экспрессии и очищены с помощью аффинной хроматографии. Для всех антител была подтверждена антиген-специфичность с помощью метода ELISA (ИФА). В качестве панели антигенов использовались химически синтезированные пептиды EBNA1³⁸⁶⁻⁴⁰⁵, LMP1⁷⁻²⁶, LMP1-GD1⁷⁻²⁶, GPI³¹⁻⁷⁴, pGlialCAM³⁷⁰⁻³⁸⁹, CRYAB⁴⁻¹⁹, GPI³¹⁻⁷⁴. Кроме моноспецифичных антител среди полученных антител были выявлены кроссреактивные (сродство к двум антигенам) и мультиреактивные (сродство к трём и более антигенам) антитела. Интересен тот факт, что в зависимости от вирусного штамма, вирус-специфичные антитела для одних из них были в основном моно- и кроссреактивными, в то время как для других антигенов превалировала доля мультиреактивных антител. Возможно, штамм вируса Эпштейна-Барр может обуславливать более высокую патогенность или влиять на характер течения заболевания.

Работа поддержана грантом РФФ №22-14-00219.

6.16. KIR2DS4+ НК-КЛЕТКИ ДЕМОНСТРИРУЮТ ПОВЫШЕННЫЙ УРОВЕНЬ СПОНТАННОЙ ДЕГРАДУЛЯЦИИ И СНИЖЕННУЮ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ

Черткова А.А.^{1,2}, Устюжанина М.О.^{1,3}, Коваленко Е.И.¹

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

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

³Сколковский институт науки и технологий, Центр наук о жизни, Москва
aglayachertkova@gmail.com

НК-клетки играют важную роль в противовирусном и противоопухолевом иммунном ответе организма. Различные субпопуляции НК-клеток отличаются по степени дифференцирования, активации и выживаемости. Известно, что НК-клетки памяти, экспрессирующие активирующий рецептор NKG2C, характеризуются повышенным уровнем данных параметров. Особенности субпопуляций, экспрессирующих активирующие рецепторы из семейства KIR, также представляющие собой потенциальные антиген-специфические клетки, малоизучены. Целью данной работы было сравнение уровня дифференцировки, активации и выживаемости KIR2DS4+ и KIR2DS4- субпопуляций НК-клеток *in vitro* в условиях отсутствия дополнительной стимуляции.

В этой работе НК-клетки выделяли с помощью отрицательной магнитной сепарации из периферических мононуклеарных клеток. Далее KIR2DS4+ и KIR2DS4- субпопуляции НК-клеток разделяли с помощью клеточного сортера. Для оценки активации клеток на следующий день оценивали спонтанную дегрануляцию по уровню экспрессии CD107a на поверхности НК-клеток в отсутствие клеток-мишеней. Также был проведен сравнительный анализ представленности на поверхности НК-клеток активационных маркеров CD69 и CD137 и антигена CD57 - маркера конечной стадии дифференцировки НК-клеток, ассоциированного с высоким цитотоксическим потенциалом. После недельного культивирования оценивали степень активации НК-клеток путем измерения уровня HLA-DR и определяли пролиферативную активность НК-клеток.

Было показано, что KIR2DS4+ НК-клетки в сравнении с KIR2DS4- клетками активнее дегранулируют и являются более дифференцированными, однако демонстрируют сниженный уровень экспрессии активирующих рецепторов CD69 и CD137. После 7-дневного культивирования было выявлено снижение жизнеспособности KIR2DS4+ НК-клеток.

Таким образом, НК-клетки субпопуляции KIR2DS4+ являются высокодифференцированными, однако, в отсутствие специфической стимуляции оказываются менее жизнеспособными и активированными по сравнению с KIR2DS4- клетками.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ № 24-75-10136.

СЕКЦИЯ 7

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ КЛЕТОЧНЫХ ПРОЦЕССОВ И МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

7.1. ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЦИС-ПЕТЕЛЬНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ КЛЕТКАХ НЕЙРОБЛАСТОМЫ ПРИ ИХ СОКУЛЬТИВАЦИИ С ГЛИОБЛАСТОМой

Васильева Н.А., Кудрявцев Д.С., Гондаренко Е.А.

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

Актуальность

Мультиформная глиобластома - это одна из наиболее агрессивных и распространенных форм первичных опухолей головного мозга. Она характеризуется высокой степенью злокачественности и быстрым ростом, что делает ее одной из самых сложных для лечения. Несмотря на значительные достижения в области хирургического вмешательства, радиотерапии и химиотерапии, прогноз для пациентов с глиобластомой остается крайне неблагоприятным, что подчеркивает необходимость поиска новых подходов к лечению и пониманию биологии опухоли. Важную роль в прогрессировании глиобластомы и в её устойчивости к химиотерапии играет микроокружение опухоли (МОО).

Цис-петлевые рецепторы, как важные регуляторы клеточной сигнализации, могут оказывать значительное влияние на пролиферацию клеток. Изучение их активации в контексте сокультывации с глиобластомой может выявить новые механизмы, влияющие на прогрессию опухоли, ее устойчивости к терапии и метастазированию.

Методы и результаты

В работе были использованы следующие методы: дифференцирование клеточной линии нейробластомы SH-SY5Y в нейроноподобные клетки с помощью транс-ретиноевой кислоты (ATRA); метод локальной фиксации потенциала (patch-clamp); метод анализа жизнеспособности клеток с помощью резазурина; конфокальная микроскопия с использованием антител на разные нейро-глиальные маркеры и флуоресцентно меченых лигандов цис-петельных рецепторов.

В ходе работы были подобраны условия дифференцировки клеток нейробластомы SH-SY5Y в нейроноподобные клетки с помощью ATRA и показано наличие ряда нейрональных маркеров на этих клетках. Кроме того, были подобраны условия сокультывации нейроноподобных клеток с клетками линии глиобластомы T98G.

Выводы и заключение

Активация и ингибирование цис-петлевых рецепторов может значительно влиять как на пролиферацию опухолевых клеток, так и на взаимодействие между опухолевыми клетками и их МОО.

7.2. СЕНСОР ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА HuPer КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ АНТИОКСИДАНТНЫХ СИСТЕМ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ ОТВЕТЕ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС

Витковская Е.В.^{1,2}, Иванова Ю.С.¹, Пуговкина Н.А.¹, Люблинская О.Г.¹

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
rinettaj@gmail.com

Усиленная метаболическая активность, нарушение митохондриальной функции и онкогенный сигналинг в раковых клетках приводит к повышенной продукции в них внутриклеточных активных форм кислорода. В связи с этим, антиоксидантная защита раковых клеток является критическим аспектом их выживания и прогрессирования опухолей. Тиоредоксин (TRX)- и глутатион (GSH)-зависимые пути являются важнейшими ферментативными системами, обеспечивающими поддержание антиоксидантной функции клеток, однако недостаточная изученность работы этих систем затрудняет их использование в качестве мишеней для противоопухолевой терапии.

В ходе исследования на основе анализа динамики окисления белка HuPer нами была проведена количественная оценка антиоксидантной активности опухолевых клеток под действием внешнего окислительного стресса различной интенсивности. Исследования проводились с использованием линии клеток хронической миелогенной лейкемии K-562.

Наши результаты показали, что с ростом уровня окислительного стресса пероксидазная активность клеток K-562 прогрессивно снижается. С использованием ингибиторов TRX- и GSH-зависимых систем, ауранофина и бутионинсульфоксимиона соответственно, мы охарактеризовали их вовлеченность в детоксификацию внутриклеточной перекиси водорода при разных окислительных нагрузках. Было установлено, что TRX-система обладает высокой эффективностью исключительно при низком уровне окислительного стресса, по концентрациям приближенного к физиологическому уровню, определяемому в плазме крови. Напротив, GSH-система вносит равный вклад в обеспечение пероксидазной активности вне зависимости от интенсивности стресса, что скорее свидетельствует о выполнении ею буферной антиоксидантной функции в клетке.

Таким образом, данное исследование дало возможность провести функциональную характеристику антиоксидантных систем опухолевых клеток человека, что открывает перспективы для разработки новых стратегий, направленных на подавление их устойчивости к окислительному стрессу.

Работа поддержана грантом РФФ №21-74-20178.

7.3. ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ГОМО- И ГЕТЕРО-ТЕТРАМЕРНЫХ ПОТЕНЦИАЛ-ЗАВИСИМЫХ КАНАЛОВ Kv1.1/1.2 МЕТОДОМ ПАТЧ-КЛАМП

Казakov О.В.^{1,2}, Крюкова Е.В.¹, Некрасова О.В.¹, Феофанов А.В.¹

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

²Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный
kazakov.oleg.v@yandex.ru

Потенциал-зависимые калиевые каналы (Kv) - трансмембранные белки, обеспечивающие селективный ток ионов калия через мембрану в ответ на изменение мембранного потенциала. Калиевые каналы семейства Kv1 вовлечены в различные физиологические процессы, такие как возбудимость нейронов и сокращение мышц, секреция цитокинов и гормонов, деление клеток и апоптоз. Нарушения функционирования Kv1 связаны с большим количеством заболеваний и патологических состояний. В зависимости от локализации и выполняемых функций каналы Kv1 могут быть сформированы одинаковыми или разными α -субъединицами, то есть представлять собой гомо- или гетеротетрамеры.

Целью настоящей работы было сравнение кинетических свойств каналов, образованных отдельными α -субъединицами человека (Kv1.1 и Kv1.2), и гетеротетрамерных каналов, образованных конкатемерами Kv1.1-1.1, Kv1.1-1.2, Kv1.2-1.1 и Kv1.2-1.2. Особенности активации и деактивации каналов изучали электрофизиологическим методом патч-кламп в режиме целой клетки на клетках Neuro2a, транзистентно трансфицированных соответствующими конструкциями. Все исследованные каналы демонстрировали характерные потенциал-зависимые выходящие токи с быстрой активацией и практически без деактивации. Для количественной оценки кинетики нами были получены временные константы активации (τ_{act}) и деактивации (τ_{deact}). Обнаружено, что различия в значениях τ_{act} наблюдаются только при низком потенциале мембраны (-30 мВ): для Kv1.2 и Kv1.2-1.2 в диапазоне 10-14 мс, для всех остальных каналов - 3-7 мс. При повышении потенциала скорость активации всех каналов растет и τ_{act} уменьшается до 0.8-1.2 мс. Деактивация для всех исследованных каналов замедляется при изменении потенциала мембраны с -70 до -30 мВ. В среднем, при -50 мВ значения τ_{deact} находились в диапазоне 35-55 мс. Самая медленная деактивация наблюдалась для конкатемера Kv1.2-1.2.

Таким образом показано, что объединение субъединиц в конкатемеры не изменяет кинетические свойства каналов, в большей степени влияние оказывают индивидуальные характеристики субъединиц, входящих в их состав. Наличие Kv1.2 на N-конце конкатемера приводит к замедлению активации и увеличению τ_{act} при низком напряжении.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №22-14-00406.

7.4. ИССЛЕДОВАНИЕ ГАЛОГЕНИРУЮЩЕГО СТРЕССА В МОДЕЛИ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ НА ТРОЙНОЙ КУЛЬТУРЕ НЕЙРОНОВ, АСТРОЦИТОВ И МИКРОГЛИИ

Катруха В.А.¹, Сергеева А.Д.^{1,2}, Храмова Ю.В.^{1,3}, Билан Д.С.^{1,4}

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

²Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России, Москва

³Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

⁴Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва

katrukhav@gmail.com

Нейровоспаление - один из важнейших факторов, повреждающих центральную нервную систему. Это патологический процесс, в ходе которого в ответ на провоспалительные стимулы в мозге активируется врожденная иммунная система. Считается, что нейровоспаление связано с выработкой активных форм кислорода (АФК), но достоверно не известно, принимают ли участие в этом процессе активные формы галогенов (АФГ, гипогалогенные кислоты - HOCl , HOBr и HOscn). В силу нестабильности АФГ, до недавнего времени не удавалось показать их участие в нейровоспалении.

Для регистрации выработки гипогалогенных кислот на живых объектах в режиме реального времени, рационально использовать генетически кодируемые флуоресцентные биосенсоры. Мы используем разработанный в нашей лаборатории биосенсор *Hucrocrates2*, полученный посредством интеграции кругового пермутанта желтого флуоресцентного белка в область подвижной петли репрессора транскрипции *NemR* из *Escherichia coli*.

События, связанные с генерацией АФГ мы исследуем на тройной культуре клеток, полученных из мозга новорожденных крысят. Тройная культура состоит из нейронов, астроцитов и микроглии, что определяет условия, наиболее приближенные к таковым в живом мозге. Астроциты в данной культуре трансдуцируют вирусными частицами *AAV9*, содержащими ген биосенсора *Hucrocrates2*, находящегося под контролем тканеспецифичного промотора.

Таким образом, культура, в которой астроциты стабильно экспрессируют *Hucrocrates2*, позволяет регистрировать в них пространственно-временную динамику АФГ при моделировании нейровоспаления, инициированного воздействием различных факторов: глутамат-опосредованного эксайтотоксического стресса, гипоксии и т.д.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 22-15-00299).

7.5. РАЗРАБОТКА ГЕТЕРОТИПИЧЕСКИХ КЛЕТОЧНЫХ 3D-МОДЕЛЕЙ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ДЛЯ АНАЛИЗА АКТИВНОСТИ НК-КЛЕТОК ЛИНИИ УТ

Леонтьева А.А.^{1,2}, Абдурахманова М.М.¹, Нуштаева А.А.^{1,2}

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

²Научно-технологический университет "Сириус", Краснодарский край, федеральная территория "Сириус"
anastleont@mail.ru

Перспективными моделями для изучения рака молочной железы (РМЖ) являются гетеротипические сфероидные модели (3D), состоящие из нескольких типов клеток и отражающие гетерогенный состав опухоли. Подобные модели позволяют оценивать эффективность различных терапевтических подходов, в том числе иммунотерапии. В работе рассматривается процесс формирования гетеротипических моделей из опухолевых (MCF7, MDA-MB-231, SK-BR-3) и стромальных (BN120f, BrC4f) клеток, а также оценивается проникновение и цитотоксическая активность НК-подобных клеток линии УТ по отношению к полученным моделям.

Для исследования особенностей формирования 3D-моделей проводили съемку процесса агрегации сфероидов в режиме реального времени. Время формирования сфероидов не зависело от типа и скорости удвоения опухолевых клеток в их составе. При этом при добавлении в состав модели нормальных фибробластов BN120f сфероиды формировались быстрее, чем при добавлении опухоль-ассоциированных фибробластов BrC4f. Далее оценили воздействие НК-клеток на 2D-модели и показали, что УТ не оказывают эффекта на пролиферацию клеток MCF7 и SK-BR-3, но приводят к снижению клеточного индекса клеток MDA-MB-231, BrC4f и BN120f. В случае 3D-моделей для оценки активности УТ оценивали степень "разрушения" структуры сфероида. В моделях, содержащих MCF7, НК-клетки были локализованы рядом с фибробластами. В моделях из SK-BR-3 цитотоксическая активность НК-клеток была направлена на клетки поверхностного слоя сфероидов. Для сфероидов данного типа также оценили жизнеспособность клеток в составе моделей и показали появление мертвых клеток на периферии сфероидов при сокультивировании с УТ. Наибольшая киллерная активность НК-клеток наблюдалась по отношению к сфероидам из клеток линии MDA-MB-231.

Таким образом, разработаны трехмерные модели, позволяющие исследовать инфильтрацию и киллерную активность НК-клеток по отношению к опухолям молочной железы.

Исследование было выполнено при финансовой поддержке проекта, реализуемого в рамках государственной программы федеральной территории "Сириус" "Научно-технологическое развитие федеральной территории "Сириус" (Соглашение № 27-03 от 27.09.2024)

7.6. МЕХАНИЗМЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНОВ ЦИНКА НА МЕМБРАННЫЕ СТРУКТУРЫ ЛИПОСОМ ИЗ СОЕВОГО ЛЕЦИТИНА

Машукова А.В.¹, Дубовик А.С.^{1,2}, Швыдкий В.О.¹, Шишкина Л.Н.¹

¹Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва

²Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН,
Москва

ana.mashuckova@yandex.ru

Понимание механизмов воздействия биологически активных соединений на мембраны клеток является важным аспектом для прогнозирования их активности или профилактики неблагоприятных воздействий. Одним из необходимых микроэлементов для нормальной жизнедеятельности биообъектов является распространенный кофактор ферментов цинк, участвующий в апатозе клетки и внутриклеточных метаболических процессах. При протекании патологических или воспалительных процессов возможно нарушение межмолекулярных связей и высвобождение свободных ионов, кроме того ионы Zn^{2+} в избытке могут поступать в организм человека из окружающей среды.

Цель работы - изучение механизмов воздействия ионов цинка в широком диапазоне концентраций (10^{-6} М, 10^{-5} М, 10^{-4} М) на мембранные и примембранные процессы в биологической системе липосом из лецитина в полярной среде и выявить их влияние на активность люциферазы светящихся бактерий, связанной с интенсивностью перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Вне зависимости от концентрации ионы цинка способны проникать внутрь липосом и взаимодействовать как с гидрофильными головками, так и гидрофобными хвостами фосфолипидов мембран, что было подтверждено изменениями в оптической плотности максимумов полос поглощения в УФ-спектрах, обработанных по методу Гаусса. Однако в зависимости от концентрации пробиотика эффекты оказываемые на примембранные, мембранные и внутриклеточные процессы имеют различный характер. Так при низкой концентрации (10^{-6} М) не обнаружено влияния на примембранные процессы, но при её увеличении уменьшается отрицательная величина дзета-потенциала, что обуславливает изменения в диффузионном поверхностном слое липосомы. В свою очередь, это может быть связано с уменьшением размера получаемых агрегатов из-за изменений как в межмолекулярных, так и во внутримолекулярных взаимодействиях. Это подтверждается изменениями в УФ-спектрах в трех характерных максимумах полос поглощения для фосфолипидов. Изменения во внутриклеточных взаимодействиях регистрировали с помощью тест-системы светящихся бактерий "ЭКОЛЮМ". Были обнаружены ингибирующие эффекты ПОЛ при малой концентрации ионов цинка в мембранных структурах, а интенсификация процессов ПОЛ наблюдалась при более высоких концентрациях, как в мембранном, так и внутриклеточном взаимодействии.

СЕКЦИЯ 8 ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

8.1. ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ УСЛОВИЙ МОДИФИКАЦИИ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ НА ОБРАЗОВАНИЕ ПОКРЫТИЯ ИЗ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА НА ИХ ПОВЕРХНОСТИ

*Абдуллина М.И.¹, Ильиных А.А.¹, Торопцева А.В.¹, Горобец М.Г.¹,
Батчаева Б.Б.¹, Бирюкова М.И.¹, Костанова Е.А.¹, Майорова О.А.²,
Бычкова А.В.¹*

¹Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва

²Саратовский национальный исследовательский государственный
университет, Саратов
triyozhika@gmail.com

Для биомедицинских применений магнитных наночастиц (МНЧ) необходима их модификация, то есть, создание покрытия на их поверхности, что важно для получения стабильных и биосовместимых гибридных наносистем. В данной работе изучались условия, при которых происходит образование на поверхности МНЧ оксидов железа Fe_2O_3 и Fe_3O_4 покрытий из человеческого сывороточного альбумина (ЧСА). Такие наносистемы могут быть применены, например, для адресной доставки лекарств.

В целях проверки устойчивости альбуминового покрытия на поверхности МНЧ проводилась конкурентная адсорбция с иммуноглобулином G, который обладает высоким сродством к поверхности МНЧ. IgG связывается с поверхностью МНЧ с образованием агрегатов микронных размеров, а ЧСА может препятствовать образованию таких агрегатов в случае формирования им устойчивого и целостного покрытия на поверхности МНЧ.

Формирование устойчивого и целостного покрытия зависит от различных факторов. Например, было показано, что изменение соотношения ионов железа Fe^{2+}/Fe^{3+} вследствие УФ-облучения магнитных наночастиц влияет на минимальную концентрацию ЧСА, необходимую для образования покрытия на их поверхности, устойчивого к вытеснению иммуноглобулином G. Также выявлено, что добавление пероксида водорода оказывает влияние на устойчивость альбуминового покрытия, так как МНЧ обладают пероксидазоподобной активностью, то есть, способны участвовать в реакциях, подобных реакции Фентона, с образованием активных форм кислорода (таких, как гидроксил-радикал). Было изучено влияние концентрации человеческого сывороточного альбумина на снижение каталитической активности МНЧ вследствие адсорбции на их поверхности ЧСА при помощи орто-фенилендиаминa.

Работы по созданию гибридных наносистем проводятся при финансовой поддержке Российского научного фонда № 22-75-10150, <https://rscf.ru/project/22-75-10150/>. Разработка подходов по использованию IgG для оценки свойств покрытий из ЧСА на МНЧ выполнена при поддержке из средств федерального бюджета Министерства науки и высшего образования РФ в рамках Государственного задания ИБХФ РАН (тема No 122041300210-2).

8.2. ПРИМЕСНЫЕ БЕЛКОВЫЕ ФРАКЦИИ В ТЕЛЬЦАХ ВКЛЮЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРФЕРОНА БЕТА ЧЕЛОВЕКА В БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЕ

Алтухова Д.А., Бояришин К.С., Батлуцкая И.В.

Белгородский государственный университет, Белгород
altuhowadi@yandex.ru

Данные о процессах, связанных с синтезом рекомбинантных белков в клетках кишечной палочки преимущественно сфокусированы на оптимизации экспрессии и фолдинга рекомбинантного белка. С точки зрения выделения и очистки получаемого продукта также представляет интерес изучение состава примесных фракций, накапливающихся в растворимой и нерастворимой форме в цитоплазме клеток продуцента.

При выделении рекомбинантных белков из телец включения снижено количество примесей, подлежащих удалению методами хроматографической очистки. Прояснение их природы и характеристик может способствовать оптимизации этих методов, снижению расходов на амортизацию хроматографических колонок и себестоимости продукта.

Молекулярные массы основных белковых примесей являются важным показателем, позволяющим подбирать методы предварительной очистки белкового экстракта, полученного из отмытых телец включения. В данной работе проведён электрофоретический анализ белковых фракций, сопутствующих рекомбинантному интерферону бета на стадиях, предшествующих его ренатурации.

Экспрессия рекомбинантного интерферона бета человека велась с использованием индуцируемой экспрессирующей системы на основе вектора pQE30 в штамме M15[pREP4] в течение 5 часов, начиная с оптической плотности 0,6 о.е. Нерастворимые фракции из проб, отобранных в 0, 3 и 5 часов, разделяли методом электрофореза по Лэммли и анализировали методом денситометрии с использованием программы GelAnalyser24.

Фракции в диапазоне молекулярных масс 37-75 кДа составляли 59-64% общей массы примесей. Таким образом, в основную часть примесных белков не входят рибосомальные белки с молекулярными массами 4,4-29,7 кДа (кроме S1), однако, может входить фактор элонгации Ef-Tu (43 кДа) и белки теплового шока (57, 66 кДа). Также можно ожидать обогащения фракции нерастворимых белков мембранными белками в процессе ультразвукового лизиса культуры.

Примесные белки образуют более высокомолекулярные фракции, чем целевой белок, что позволяет использовать для его предварительной очистки концентраты с диаметром пор, соответствующим удержанию белков массой до 30 кДа. Внедрив этот подход, представляется возможным упростить хроматографическую очистку и повысить срок эксплуатации колонок.

8.3. НАНОПРИЗМЫ СЕРЕБРА В ОНКОТЕРАНОСТИКЕ: СИНТЕЗ, ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИМЕНЕНИЕ *in vitro* И *in vivo*

Антонова А.О.¹, Колесникова О.А.¹, Светлакова А.В.¹, Комедчикова Е.Н.¹, Иванцова П.М.², Шипунова В.О.¹

¹Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный

²Научно-технологический университет "Сириус", Краснодарский край, федеральная территория "Сириус"
antonova.ao@phystech.edu

В настоящее время разрабатывается большое количество диагностических и терапевтических методов с использованием наночастиц благородных металлов. Благодаря их уникальным физическим и оптическим свойствам металлические наноструктуры успешно применяют для биовизуализации и фототерапии онкологических заболеваний. Наночастицы серебра, обладающие также антибактериальными свойствами, имеют большой потенциал для применения в качестве гипертермических и визуализирующих агентов. Особый интерес представляют нанопризмы серебра, так как обладают большим относительно других форм коэффициентом конверсии поглощаемой световой энергии в тепловую.

В данной работе был разработан метод получения серебряных нанопризм методом фотохимического синтеза, и полученные наноструктуры были всесторонне охарактеризованы. Было исследовано влияние различных покрытий полученных наночастиц на их коллоидную стабильность. Также была изучена специфичность взаимодействия модифицированных распознающими молекулами (аффибоди) наночастиц с различными клеточными линиями *in vitro*. А именно, был проведён цитофлуориметрический анализ взаимодействия конъюгатов с раковыми клетками с гиперэкспрессией рецептора-мишени и клетками с нормальным уровнем экспрессии. Было показано, что наночастицы с аффибоди связываются с раковыми клетками с высокой специфичностью. Также, было всесторонне изучено биораспределение частиц и продемонстрирована возможность применения полученных наночастиц как агентов для диагностики и фототермической терапии при возбуждении светом в ближнем ИК-диапазоне *in vivo*. Таким образом, в ходе исследования было установлено, что синтезированные адресные нанопризмы могут успешно использоваться как для биоимиджинга, так и в качестве агентов фототермической терапии.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России, проект FSMG-2023-0015.

8.4. РАЗРАБОТКА ПОДХОДА К БИОВИЗУАЛИЗАЦИИ НА ОСНОВЕ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ НАНОЧАСТИЦ

Бочкова М.А.¹, Меликов Р.О.¹, Литвиненко А.В.¹, Никитин М.П.^{1,2}

¹Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный

²Научно-технологический университет "Сириус", Краснодарский край, федеральная территория "Сириус"
bochkova.ma@phystech.edu

Биовизуализация является одним из наиболее информативных подходов к исследованию живых систем. Она позволяет в режиме реального времени получать изображения органов, тканей и отдельных клеток, предоставляя сведения об их структурах и физиологических особенностях. Изображения могут создаваться методами ядерного магнитного резонанса, компьютерной томографии, ультразвукового исследования, позитронно-эмиссионной томографии и другими методами. Такой подход активно применяется для диагностики широкого спектра заболеваний, однако многие из этих технологий требуют дополнительного введения токсичных веществ, задействуют высокоэнергетические излучения и являются финансово и времязатратными, что ограничивает их применение на регулярной основе. Люминесцентный биоимиджинг является безопасным подходом к биовизуализации, элиминирующим вышеуказанные недостатки. Данный метод позволяет в режиме реального времени отслеживать распределение и накопление люминесцентных агентов в организме. Наночастицы, благодаря своим уникальным физико-химическим свойствам, являются одними из наиболее перспективных оптически-контрастных агентов. За счёт механизмов пассивного и активного транспорта они способны селективно накапливаться в различных органах, что позволяет использовать их для диагностики и тераностики. Традиционные подходы к оптическому биоимиджингу основаны на использовании флуоресцентных меток, однако они имеют существенные ограничения в чувствительности, обусловленные автофлуоресценцией тканей.

В данном исследовании разработан метод биовизуализации, основанный на использовании хемилюминесцентных наноматериалов. В работе был синтезирован ряд мультимодальных многофункциональных люминесцентных наночастиц, варьирующихся по составу и поверхностным свойствам. Параметры люминесцентной системы были оптимизированы *in vitro*, после чего была продемонстрирована возможность детекции распределения наноагентов в режиме реального времени в организме лабораторного животного. Разработанные люминесцентные наночастицы могут стать перспективной платформой для дальнейшего развития диагностических и тераностических методов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ, проект FSMG-2023-0017.

8.5. ГИБРИДНЫЕ НАНОРАЗМЕРНЫЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ, ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА, СТЕАРИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ ПРОИЗВОДНЫХ

Вересова М.С., Торопцева А.В., Батчаева Б.Б., Горобец М.Г., Абдуллина М.И., Бычкова А.В.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва
veresovamariiaa@gmail.com

Изучение и создание гибридных систем на основе магнитных наночастиц оксидов железа (МНЧ), обеспечивающих магнитоуправляемость, визуализацию и нагрев, - перспективное направление в нанобиотехнологиях. Одной из задач является разработка наноносителей для нацеленной доставки лекарственных препаратов (ЛВ) к раковым клеткам.

В данной работе в качестве компонентов покрытия МНЧ был выбран транспортный белок человеческий сывороточный альбумин (ЧСА), обеспечивающий высокую биодоступность наноструктур в организме, и стеариновая кислота (СК), на основе которой могут быть получены производные ЛВ.

Взаимодействие СК с ЧСА исследовалось с использованием динамического светорассеяния, спектрофотометрии и спектрофлуориметрии. Образование агрегатов при наличии СК в растворе значительно снижалось в присутствии ЧСА. Для исследования влияния этих агрегатов на спектры поглощения и флуоресценции систем была создана методика подготовки проб, включающая центрифугирование и последующую фильтрацию через шприц-фильтр с размером пор 220 нм. Получены экспериментальные данные, подтверждающие связывание СК с ЧСА.

Дополнительным обоснованием способности связывания жирной кислоты с ЧСА послужила производная СК - 16-доксилстеариновая кислота (16-ДСК), которая представляет собой стабильный нитроксильный радикал, используемый в качестве спинового зонда. Анализ полученных спектров электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) зонда в водном растворе и при связывании с ЧСА подтвердил взаимодействие производной СК с ЧСА.

Реализованные методики использованы при создании гибридных наносистем на основе магнитных наночастиц с покрытием из сывороточного альбумина.

Работы по созданию гибридных наносистем проводятся при финансовой поддержке Российского научного фонда № 22-75-10150, <https://rscf.ru/project/22-75-10150/>. Работа выполнена с использованием научного оборудования ЦКП "Исследовательский химико-аналитический центр НИЦ "Курчатовский институт" и ЦКП "Новые материалы и технологии" ИБХФ РАН при поддержке из средств федерального бюджета Министерства науки и высшего образования РФ в рамках Государственного задания ИБХФ РАН.

8.6. ПОЛУЧЕНИЕ ЛИПИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ ИОНИЗИРУЕМОГО КАТИОННОГО ЛИПИДА ДЛЯ ДОСТАВКИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Гайсин К.Ш.^{1,2}, Водовозова Е.Л.¹

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

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва
karim.gaisin@chemistry.msu.ru

Липидные наночастицы (ЛНЧ), содержащие катионные ионизируемые липиды, используются в качестве систем внутриклеточной доставки терапевтических агентов, в том числе нуклеиновых кислот. В лаборатории химии липидов ИБХ РАН был синтезирован новый липид [3-[5-[5-[1,2-ди(деканоилюкси)пропан-3-илокси]пентил-(4-гидроксибутил)-амино]пентокси]-2-деканоилюксипропил]деканоат (**1**). В отличие от большинства описанных в литературе ионизируемых липидов, соединение **1** не содержит разветвленных алкильных фрагментов, что должно облегчить его биодеградацию и, следовательно, снизить его системную токсичность. Показано, что целевое соединение **1** может быть получено в шесть стадий из коммерчески доступных реактивов: каприновой кислоты, глицерина, 1,5-дибромпентана, 1,4-бутаноламина и других. С применением препаративной адсорбционной хроматографии на 3-х стадиях суммарный выход по всем стадиям составляет 2%, структура целевого соединения подтверждена методами ЯМР-спектроскопии на ядрах ¹H и масс-спектрометрии высокого разрешения.

На основе соединения **1** были получены ЛНЧ разных составов, содержащие соединение **1** - холестерин - дистеароилфосфатидилхолин - полиэтиленгликоль2000-дипальмитоилглицерофосфоэтаноламин в мольных соотношениях 46.3 : 42.7 : 9.4 : 1.6 (ЛНЧ-1) и 52 : 41 : 5.4 : 1.6 (ЛНЧ-2) соответственно, и модельную мРНК люциферазы светлячка (FLuc-мРНК). Включение мРНК осуществлялось с помощью метода смешивания водно-этанольных сред с последующим диализом. ЛНЧ с включенной мРНК исследованы методом динамического светорассеяния: величины гидродинамического диаметра/индекса полидисперсности составили 150 нм/0.22 для ЛНЧ-1 и 167 нм/0.25 для ЛНЧ-2. Планируется проанализировать степень включения FLuc-мРНК в ЛНЧ и эффективность трансфекции в клетки эмбриональной почки человека (HEK293T).

8.7. ПОЛУЧЕНИЕ АНТИТЕЛ ПРОТИВ ЛИДЕРНОГО БЕЛКА ВИРУСА ЭНЦЕФАЛОМИОКАРДИТА

Гладнева Е.Е.

ФНЦ исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита), Москва
gladneva_ee@chumakovs.su

Вирус энцефаломиокардита (EMCV) принадлежит к роду *Cardiovirus* семейства *Picornaviridae*. EMCV потенциально зоонозный патоген и представляет собой небольшой безоболочечный вирус с оц(+)РНК, лидерный белок (L) которого играет ключевую роль в подавлении защитных механизмов клетки против вирусной инфекции. Хотя L не обладает никакой ферментативной активностью, однако, способен блокировать ядерно-цитоплазматический транспорт в клетке, связываясь с Ran-GTP-фазой, необходимой для транспорта белков и РНК через ядерные поры. Известно, что дефицит функционального лидерного белка приводит к снижению эффективности вирусной трансляции и апоптозу в клетках HeLa. На данный момент функции, локализация и взаимодействие с клеточными белками L EMCV при вирусной инфекции до конца не изучены.

Целью данной работы является получение антител против L белка EMCV. Для получения рекомбинантного белка L EMCV была разработана схема клонирования последовательности L EMCV в бактериальную систему *E.coli*. В ходе исследования была определена оптимальная концентрация IPTG для успешной индукции экспрессии L белка, а также период индукции. Условия выделения и очистки белка подбирались эмпирически: путем постепенного повышения концентрации имидазола в буфере элюции при выделении белка методом металл-хелатной аффинной хроматографии с Ni-сефарозой в качестве сорбента. Результаты каждого этапа наработки и очистки белка подтверждаются белковыми форезами в градиентном ПААГ в денатурирующих условиях и вестерн-блоттингом. В результате очистки наибольшая концентрация пробы выделенного белка для последующей иммунизации лабораторных животных, в частности мышей, составила 23 мкг/мл. В настоящий момент работа находится на завершающем третьем этапе иммунизации. В дальнейшем планируется определить локализацию L белка EMCV в клетке и изучить функции в развитии патологии при вирусной инфекции.

Государственное задание: тема № ФНЗГ-2022-0001 "РНК-содержащие вирусы: фундаментальные аспекты взаимодействия с клеткой, репликации, эволюции и молекулярной эпидемиологии".

8.8. ОЦЕНКА ПЕРОКСИДАЗОПОДОБНЫХ СВОЙСТВ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ В СОСТАВЕ ГИБРИДНЫХ НАНОСИСТЕМ

Горобец М.Г., Абдуллина М.И., Торопцева А.В., Бычкова А.В.

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

maria.g.gorobets@gmail.com

Магнитные наночастицы (МНЧ) оксидов железа в течение последних десятилетий активно применяются в исследованиях, нацеленных на создание функциональных биомедицинских материалов для целевой доставки лекарственных веществ, магнитной гипертермии, магнитной сепарации, магнитно-резонансной томографии и др. В то же время одной из проблем использования МНЧ в составе лекарственных средств является их ограниченная биосовместимость. Для ее повышения на поверхности МНЧ создают покрытия, состоящие из белков, в число которых входит сывороточный альбумин (бычий и человеческий (ЧСА)), а также в ряде случаев иммуноглобулины G IgG, обеспечивающие возможность нацеливания наночастиц на биологические мишени по механизму "антиген-антитело" *in vivo* и применяющиеся в различных аспектах иммуносорбции, биохимических анализов и т.д.

Данная работа посвящена выявлению диапазонов устойчивости и целостности покрытия из ЧСА на поверхности МНЧ в различных средах и подбору условий хранения МНЧ, на поверхности которых иммобилизован ЧСА. Были проанализированы гидродинамические диаметры и пероксидазоподобные свойства систем состава МНЧ, МНЧ+ЧСА в различных условиях. Было показано, что при хранении в воде (предпочтительном для хранения систем состава МНЧ+ЧСА растворителе согласно литературным данным) в течение 3 суток частицы с покрытием из ЧСА имеют тенденцию к образованию агрегатов, а в плазме крови формирование дополнительного белкового покрытия определяется особенностями процедуры нанесения покрытий из ЧСА на МНЧ.

Полученные нами данные обсуждаются в терминах "белковой короны" - способности частиц при введении в биологическую жидкость формировать на своей поверхности слой сорбированных белков, предопределяющий распределение частиц в организме, их токсичность, а также эффективность функционирования.

Исследования по разработке методических основ создания гибридных наносистем проводятся при финансовой поддержке Российского научного фонда № 22-75-10150, <https://rscf.ru/project/22-75-10150/>. Работа выполнена с использованием научного оборудования ЦКП "Новые материалы и технологии" ИБХФ РАН при поддержке из средств федерального бюджета Министерства науки и высшего образования РФ в рамках Государственного задания ИБХФ РАН.

8.9. СИНТЕЗ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ МАГНИТНО-КРЕМНИЕВЫХ НАНОЧАСТИЦ В КАЧЕСТВЕ ОБЪЕКТОВ ДЛЯ БИОВИЗУАЛИЗАЦИИ *in vitro* И *in vivo*

Дукат А.М., Юрченко М.А., Шипунова В.О.

Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Институт биофизики будущего, Долгопрудный
Dukat.alex@mail.ru

Технологии синтеза и использования наночастиц различного состава для доставки терапевтических соединений к клеткам опухолей представляют собой перспективный подход в терапии и диагностике социально-значимых заболеваний. Различные наноструктуры могут выполнять роль носителей для контролируемого высвобождения низкомолекулярных соединений для терапии или визуализации опухолевых клеток. Для проведения исследований в этой области необходимо иметь инструментально-техническую базу знаний, касающуюся различных методов количественного определения наночастиц, как *in vitro*, так и *in vivo*. Однако из-за разнообразия исследовательских подходов, а также из-за разного состава синтезируемых наночастиц в данный момент существуют множество методов их количественного определения и существует довольно мало исследований, сравнивающих подобные методы друг с другом с точки зрения надёжности и воспроизводимости результатов, более того, недостаточно изучена точность и диапазоны погрешности для имеющихся методов. В данной работе были синтезированы и всесторонне исследованы наночастицы на основе магнетита, а также был проведён детальный анализ их физико-химических свойств и биологической активности. Было изучено влияние различных компонентов синтеза наночастиц на их свойства. Для создания многокомпонентных наночастиц было использовано магнетитовое ядро с кремниевой оболочкой, в состав данных наночастиц включали две флуоресцирующие метки различной природы, с поверхностью наночастиц конъюгировали люминесцентный белок, таким образом позволяя регистрировать данные наночастицы самыми разнообразными физико-химическими методами. В ходе исследования было установлено, что различные методы определения количества наночастиц достоверно отличаются друг от друга по чувствительности, диапазонам погрешности и общей надёжности. Таким образом, данное исследование играет важную роль в понимании эффективности и достоверности различных методов количественного определения наночастиц *in vitro* и *in vivo*, и позволяет сравнить эти методы друг с другом, при использовании одних и те же наночастиц в качестве измеряемого агента.

Исследование поддержано Минобрнауки России, проект FSMG-2023-0017.

8.10. ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ПРИ БИООКИСЛЕНИИ УПОРНОГО ПИРИТ-АРСЕНОПИРИТНОГО КОНЦЕНТРАТА В НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЯХ

Дюбарь А.М., Булаев А.Г., Артыкова А.В., Елкина Ю.А., Колосов А.В., Меламуд В.С., Нечаева А.В., Марданов А.В.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
annadbr1@yandex.ru

Реакторное биоокисление используют для повышения извлечения золота из упорных сульфидных концентратов. Основой биогидрометаллургической переработки сульфидных концентратов является биоокисление сульфидных минералов аэробными ацидофильными железо- и сероокисляющие микроорганизмами. Дополнительные источники углерода могут позволить интенсифицировать процессы биоокисления сульфидных концентратов и влияют на состав микробных популяций реакторов биоокисления.

В данной работе было исследовано влияние повышения плотности пульпы и температуры, а также уменьшения времени пребывания (неблагоприятных условий) на состав микробных популяций биоокисления пирит-арсенопиритного концентрата при использовании CO_2 в качестве дополнительного источника углерода. Эксперименты проводили параллельно в контрольных реакторах, где источником углерода служил CO_2 , поступающий с воздухом, а также в реакторах, в которые подавали дополнительный диоксид углерода. Состав микробных популяций определяли высокопроизводительным секвенированием V3-V4 переменных фрагментов генов 16S рРНК. В контрольных экспериментах параметры процесса были следующими: 40°C , плотность пульпы - 10%, время пребывания - 5 суток, для создания неблагоприятных условий повышали температуру до 50°C , или плотность пульпы до 20%, или уменьшали время пребывания до 3 суток. В контрольных экспериментах влияние дополнительного CO_2 на биоокисление сульфидного концентрата было незначительным. При повышении температуры до 50°C или плотности пульпы до 20% ("стрессовые условия"), активность биоокисления в значительной степени снизилась по сравнению с контролем, однако использование CO_2 позволило частично нивелировать негативные эффекты изменения условий процесса. Анализ микробных популяций биореакторов показал, что использование CO_2 привело как к увеличению общей численности клеток микроорганизмов, так и к изменению количественных соотношений между разными группами микроорганизмов. Таким образом, использование дополнительного диоксида углерода в неблагоприятных условиях оказывало влияние на микробные популяции биореакторов, что, в свою очередь, влияло и на скорость окисления сульфидных минералов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект № 21-64-00019.

8.11. ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ СИНТЕЗ 3'-ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОЗИДА N-(4-ХЛОРФЕНИЛ)-1Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-КАРБОКСАМИДА

Ефимова А.А.¹, Зорина Е.А.², Каюшин А.Л.²

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

²ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
aleksandra.efimowa2015@gmail.com

Препараты на основе нуклеозидов - перспективно развивающаяся отрасль медицинской химии. На протяжении уже долгих лет они показывают высокую противовирусную, антибактериальную и противоопухолевую активность. Большой интерес в данный момент представляет получение серии 3'-дезоксирибонуклеозидов 1,2,4-триазол-3-карбоксамидов, модифицированных по аминогруппе (Рисунок 1А). Одним из таких гетероциклических оснований является N-(4-хлорфенил)-1Н-1,2,4-триазол-3-карбоксамид (Рисунок 1В).

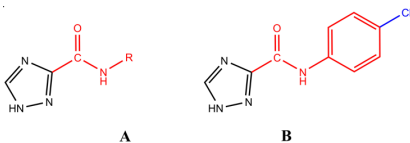


Рисунок 1. (А) Структура 1,2,4-триазол-3-карбоксамидов, имеющих различные заместители по аминогруппе, (В) гетероциклическое основание N-(4-хлорфенил)-1Н-1,2,4-триазол-3-карбоксамид

Синтез нового 3'-дезоксирибонуклеозида N-(4-хлорфенил)-1Н-1,2,4-триазол-3-карбоксамида осуществлен реакцией ферментативного трансгликозилирования с применением рекомбинантной уридинфосфорилазы *E.coli* (UP) и пурииннуклеозид фосфорилазы *E.coli* (PNP).

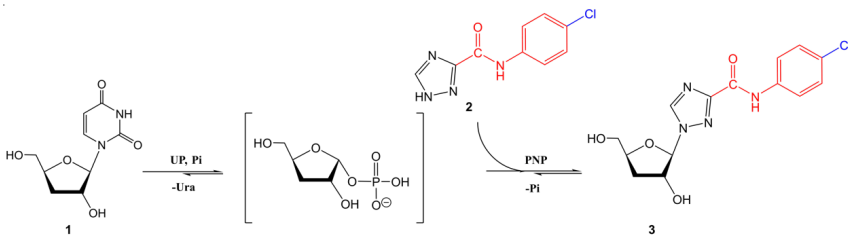


Рисунок 2. Схема ферментативного синтеза 3'-дезоксирибонуклеозида N-(4-хлорфенил)-1Н-1,2,4-триазол-3-карбоксамида

По полученным данным оптимальными параметрами синтеза являются: донор углеводного остатка - 3'-деоксиуридин **1**, pH раствора 7,0, молярное соотношение субстратов 1:10 (гетероциклическое основание **2** : 3'-деоксиуридин **1**), концентрация UP 10 е.а./мл, концентрация PNP 50 е.а./мл. По данным ВЭЖХ конверсия гетероциклического основания **2** в целевой 3'-дезоксирибонуклеозид **3** за 17 дней составляет 82,7%.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 24-14-00458.

8.12. БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ МАЖОРНЫХ АЛЛЕРГЕНОВ СОИ Gly m 4 И ПЫЛЬЦЫ БЕРЕЗЫ Bet v 1, А ТАКЖЕ ХИМЕРНЫХ БЕЛКОВ Bet v 1-Gly m 4 И СТВ-Bet v 1-Gly m 4

Ионин А.В.^{1,2}, Финкина Е.И.¹, Овчинникова Т.В.^{1,2}, Богданов И.В.¹

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

²Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва
contraton@mail.ru

Одной из глобальных проблем всемирного здравоохранения является широкая распространённость аллергических заболеваний. На сегодняшний день единственным способом этиотропного лечения аллергии является аллерген-специфическая иммунотерапия (АСИТ). Этот подход заключается во введении пациенту возрастающих доз аллергена, что приводит к переключению иммунного ответа и блокированию развития IgE-опосредованных аллергических реакций. Наиболее безопасные варианты АСИТ основаны на использовании гипоаллергенных аналогов мажорных аллергенов, не содержащих IgE-реактивные эпитопы, а также химерных молекул, представляющих собой слитые полипептидные участки разных аллергенных белков.

Целью настоящего исследования являлась разработка биотехнологических способов получения мажорных аллергенов бобов сои Gly m 4 и пыльцы берёзы Bet v 1, а также химерных молекул, представляющих собой полипептидные цепи, содержащие участки обоих этих аллергенов. Плазмидная конструкция одного из химерных белков содержала последовательность СТВ, кодирующую В-субъединицу холерного токсина и обеспечивающую повышенную иммуногенность при введении лабораторным животным. Для получения рекомбинантных белков был выбран штамм ClearColi BL21(DE3) с модифицированным ЛПС (липид IV_A), не вызывающим пирогенного эффекта в организме лабораторных животных. Разработанные биотехнологические способы получения целевых белков включали в себя химическую трансформацию компетентных клеток штамма ClearColi плазмидными конструкциями, автоиндукцию экспрессии белков лактозой в питательной среде LB, получение осветлённых клеточных лизатов, аффинную хроматографию и ОФ-ВЭЖХ. Методами твердофазного ИФА с использованием сывороток пациентов с аллергией на пыльцу берёзы и проточной цитофлуориметрии с использованием образцов их цельной крови нами была показана сниженная IgE-реактивность полученных химерных белков.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-75-10116; <https://rscf.ru/project/23-75-10116/>).

8.13. ПЕРЕРАБОТКА ЭЛЕКТРОННЫХ ОТХОДОВ ПОСРЕДСТВОМ ДВУХСТАДИЙНОГО БИОГИДРОМЕТАЛЛУРГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

Колосов А.В., Меламуд В.С., Булаев А.Г.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

alexanderthebiochemistkolosoff@gmail.com

Рост объема производимой электроники приводит к истощению природных запасов цветных и редкоземельных металлов, наиболее востребованных в электронике, и образованию электронных отходов, переработка которых традиционными методами утилизации, такими как сжигание и захоронение, не применимы из соображений защиты окружающей среды и низкой эффективности. Электронные платы являются компонентом большинства электронных устройств и являются ценным вторичным источником цветных и благородных металлов. Гидрометаллургические технологии являются эффективным подходом переработки содержащих ценные металлы сырья. Основным гидрометаллургическим методом переработки электронных отходов является химическое выщелачивание агрессивными к металлам растворами, в совокупности с использованием окисляющих реагентов, направленных на мобилизацию катионов цветных металлов в жидкую фазу. В рамках данной работы применялся раствор сульфата трехвалентного железа по следующему причинам: низкие операционные расходы при относительно высокой эффективности выщелачивания. Кроме того, восстановленные в ходе химического процесса катионы железа возможно регенерировать с помощью железоокисляющих микроорганизмов.

В ходе экспериментов исследовался процесс химического выщелачивания меди и никеля из образца измельченных печатных компьютерных плат. Были исследованы такие технологические аспекты, как материальный баланс выщелачивания, зависимости скорости выщелачивания меди и никеля от температуры, концентрации трехвалентного железа и плотности пульпы. Извлечение меди и никеля при плотности пульпы 5% (Т : Ж) за 49 часов выщелачивания составило 87,7% и 31,6% соответственно. При плотности пульпы 10% извлечение меди составило 81,4%, а никеля 37,2%.

Параллельное исследование одностадийного биологического выщелачивания с помощью культуры железоокисляющих ацидофильных микроорганизмов показало их низкую выживаемость при плотности пульпы 0,2% и полное ингибирование роста при плотности пульпы 0,3% и выше. В ходе экспериментов по адаптации смешанной культуры ацидофильных микроорганизмов, удалось достигнуть выживаемости микроорганизмов и сохранения окислительной активности в отношении двухвалентного железа при плотности пульпы 0,4%, что открывает дальнейшую перспективу применения данной культуры при регенерации растворов выщелачивания.

Таким образом, наиболее перспективной может являться технологическая схема, которая будет включать этапы химического выщелачивания отходов сульфатом трехвалентного железа, а также биорегенерации выщелачивающего раствора.

8.14. ФОТОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ АЛЬГИНАТНЫЕ АЭРОГЕЛИ С РАЗНОЛИГАНДНЫМИ КОМПЛЕКСАМИ РЕДКОЗЕМЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ГАЗОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ БИОСЕНСОРОВ

Коряковцева А.А.¹, Каплин В.С.², Копылов А.С.², Соловьева А.Б.²

¹МИРЭА - Российский технологический университет, Москва

²ФИЦ химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва

a.a.koryakovtseva@mail.ru

Флуориметрический метод анализа является одним из наиболее чувствительных методов, при помощи которого возможно определение концентрации аналита до пикограммов. Такие количества вещества фотолюминесцентный датчик может детектировать при анализе состава выдыхаемого воздуха, что используется при определении наличия злокачественных опухолей и других паталогических процессов в организме. На сегодняшний день для такого анализа применяется сложный и затратный метод газовой хроматографии-масс-спектрометрии, но в перспективе, его можно будет заменить более дешевым высокочувствительным флуориметрическим анализом.

В качестве эффективных газочувствительных элементов биосенсоров для такого анализа могут выступать альгинатные аэрогели (АЭГ), сшитые ионами редкоземельных элементов (РЗЭ) и допированные сенсibiliзирующими органическими лигандами: теноилтрифторацетоном (ttfa) и дибензоилметаном (dbm) в среде сверхкритического диоксида углерода. Показано, что каждый такой комплекс "полимер/РЗЭ/лиганд" демонстрирует индивидуальные люминесцентные характеристики.

В ходе исследований было изучено взаимодействие альгинатных фотолюминесцентных аэрогельных материалов, содержащих различные комбинации металл/лиганд с парами летучих органических соединений: аммиаком, толуолом и ацетоном.

Молекулы летучих органических соединений, поглощаемые высокопористым аэрогельным материалом, взаимодействуют с сенсibiliзирующим лигандом. В результате такого взаимодействия величина энергетического уровня лиганда изменяется, что влияет на процесс передачи энергии на центральный ион РЗЭ. При этом значение интенсивности люминесценции образца либо возрастает, либо, наоборот, уменьшается по сравнению с исходным материалом.

Показано, что наиболее чувствительными материалами к парам ацетона являются образцы АЭГ Eu, допированные ttfa (усиление интенсивности люминесценции основной полосы на 49%); к парам аммиака - образцы АЭГ Eu, допированные dbm (усиление интенсивности люминесценции основной полосы на 432%), а к парам толуола - образцы АЭГ Sm, допированные dbm (усиление интенсивности люминесценции основной полосы на 51%).

8.15. ПОЛУЧЕНИЕ Bst-ПОДОБНОЙ ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ТЕСТ-СИСТЕМАХ С ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ АМПЛИФИКАЦИЕЙ

Кутуков Р.Р., Рязанцев Д.Ю., Чернов А.С.

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

Реакция изотермической амплификации ДНК как следует из названия проходит при постоянной температуре, а значит для разделения цепей ДНК необходимы ферменты, обладающие особыми свойствами, прежде всего способностью эффективно разделять цепи ДНК при относительно невысокой температуре. Одним из таких ферментов является ДНК-полимераза *Bacillus stearotherophilus* (Bst-полимераза) — это фермент, обладающий высокой вытесняющей активностью при температурах 60–65°C. Целью данной работы было получение активного большого фрагмента процессивной Bst-подобной ДНК полимеразы для применения в тест-системах с изотермической амплификацией, в частности LAMP.

Для получения ферментов использовали аминокислотные последовательности из статьи Inyup Paik et al, 2022 (512PL, 51232) и патента US 9,157,073 B1 (Neb 7.1). Нуклеотидные последовательности получали путем обратной транскрипции с учетом частоты кодонов *E. coli*. Сборку генов, кодирующих ферменты, выполняли из перекрывающихся олигонуклеотидов. Экспрессию и очистку белка проводили по протоколу The QIAexpressionist. Культуру штамма *E. coli* M15, трансформированную целевой плазмидой pQE60, несущей целевой ген, выращивали в LB-среде с антибиотиками до OD₆₀₀ 0,6, индуцировали IPTG (0,5 мМ) и выращивали еще 4 часа при 37°C. Ферменты очищали последовательно металл-аффинной, гидрофобной хроматографиями и гель-фильтрацией. Активность полимераз тестировали методом LAMP на тест-системе для субтипов клещевого энцефалита с детекцией флуоресценции (канал FAM) при 65°C. Состав реакционной смеси: буфер 10x (Tris- HCl pH 8.8 300 мМ; сульфат аммония 50 мМ; Tween 20 2%; BSA 0,5 мг/мл) – 2,5 мкл; полимеразы, 8 ед/мкл – 0,5 - 2 мкл; Ревертаза RNAscribe RT 100 ед/мкл (Биолабмикс) – 0,1 мкл; смесь олигонуклеотидов 50 мкМ – 1,5 мкл; смесь dNTPs, 25 мМ – 1.4 мкл; Сульфат магния, 100 мМ – 2 мкл; Eva488 20x – 1,25 мкл; вода Mq - до 20 мкл; образец РНК – 5 мкл.

Выход белка составил 4, 11,6 и 2 мг/л для образцов Neb7.1, 512PL, 51232, соответственно. Полимераза 512PL продемонстрировала наиболее высокую удельную активность в условиях эксперимента, ее удельная активность превышала контрольный образец от ООО Альфа-фермент (~3 ед/мкг) в 10 раз. Полимераза 51232 показала активность, сходную с коммерческим ферментом. Полимераза Neb 7.1 оказалась неактивной.

8.16. ИЗУЧЕНИЕ МЕТОДА “ЗАМОРАЖИВАНИЯ-ОТТАИВАНИЯ” ДЛЯ СИНТЕЗА КОНЬЮГАТОВ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ С НАНОЧАСТИЦАМИ

Лапшинов Н.Э.^{1,2}, Сафенкова И.В.¹, Жердев А.В.¹, Дзантиев Б.Б.¹

¹ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт биохимии им. А.Н. Баха, Москва

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

nikita_lapshinov@mail.ru

Получение конъюгатов наночастиц с биорецепторными молекулами, сохраняющих функциональные свойства обоих компонентов, является приоритетной задачей для многих биоаналитических систем. Использование наночастиц в качестве меток в комплексах с биомолекулами позволяет значительно повысить чувствительность аналитических систем с колориметрической, электрохимической и визуальной детекцией. Цель данной работы - синтезировать и охарактеризовать конъюгаты золотых и золото-платиновых наночастиц с олигонуклеотидами разного состава, используя метод замораживания-оттаивания. Сферические наночастицы золота [НЧ(Au)] синтезировали цитратным восстановлением HAuCl_4 ; полученные препараты по данным просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) имели средний диаметр $10,6 \pm 3,6$ нм. На поверхности НЧ(Au) восстанавливали Na_2PtCl_6 , получая золото-платиновые частицы [НЧ(AuPt)] с игольчатой поверхностью и средним диаметром $29,8 \pm 5,6$ нм. Конъюгировали наночастицы и одноцепочечные ДНК олигонуклеотиды $5'$ -Ap-CCCTCCAAGAGTTAGATCATACAG-T₇-флуоресцеин-3' с разной длиной и структурой полиаденинового участка (линейный A_n с $n = 3, 5, 7, 10$, а также A_3 и A_5 с тройным разветвлением), обеспечивающего адсорбцию на поверхности наночастиц. Синтезы проводили методом замораживания (-20°C , 1 ч) - оттаивания (комнатная температура, 15 мин) с последующим отделением конъюгатов от свободных олигонуклеотидов центрифугированием. Характеристика конъюгатов методами ПЭМ, динамического лазерного светорассеяния и спектроскопии показала зависимость их стабильности от A_n , снижавшейся в рядах $A_{10} > A_5 = A_7 > 3A_5 > 3A_3 = A_3$ для НЧ(Au) и $A_7 > A_5 > 3A_3 > 3A_5 > A_{10} = A_3$ для НЧ(AuPt). Функциональность конъюгатов оценивали с использованием иммунохроматографических тест-полосок, в зоне связывания которых иммобилизовали антитела, специфичные к флуоресцеину. НЧ(Au) регистрировали по собственной окраске наночастиц, а для НЧ(AuPt) проводили также пероксидазоподобную реакцию 3,3'-диаминобензидина с H_2O_2 (нанозимный катализ), увеличившую интенсивность окрашивания в девять раз. Окрашивание зон связывания для НЧ(Au) возрастало с ростом длины A_n , а для НЧ(AuPt) с нанозимным усилением наблюдалась обратная зависимость - максимум для A_3 и A_5 . Полученные результаты впервые показывают эффективность метода замораживания-оттаивания для синтеза конъюгатов НЧ(AuPt) с олигонуклеотидами. Функциональные свойства конъюгатов наночастиц обоих типов позволяют использовать их для биоаналитических целей.

8.17. СИНТЕЗ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХОЛЕСТЕРИНА ДЛЯ НАНОМЕДИЦИНЫ

Лашина Е.А., Грецкая Н.М.

ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчиникова РАН, Москва
fairoflovel18@mail.ru

В настоящее время широкое распространение получило использование липидных наночастиц (LNPs) как средства доставки терапевтических агентов. Холестерин является необходимым компонентом LNPs. В то же время, наличие в его структуре гидроксильной группы позволяет получать производные холестерина, которые могут служить не только структурными, но и функциональными элементами LNPs. Поэтому целью нашей работы является синтез и исследование биологических эффектов (напр., противовоспалительного, цитотоксического, нейропротекторного) функционализированных производных холестерина в составе LNP на клеточных культурах. Для этого нами были синтезированы новые карбаматные и эфирные производные холестерина, содержащие NO-донорные фрагменты, этаноламин, ГАМК, дофамин, холин, олеиновую кислоту, а также получено флуоресцентное производное холестерина и BODIPY-C5-564/570 кислоты. Эфиры холестерина с олеиновой кислотой и с BODIPY-C5-564/570 кислотой получали по методу F-ангидридов. Синтез карбаматных производных осуществляли реакцией предварительно полученного хлороформиата холестерина с целевыми аминами. Также были получены производные холестерина с дофамином и холином, в которых связь нейромедиатора с холестерином осуществляется через линкер (ГАМК).

Способность NO-донорных производных холестерина к генерации NO оценивали по методу Грисса. Показано, что такие вещества являются донорами оксида азота и могут быть использованы как функционализированные производные холестерина для включения в гидрофобное ядро LNP. Цитотоксическое действие синтезированных производных оценивали на нормальных и трансформированных клеточных культурах. Флуоресцентное производное холестерина использованы для анализа проникновения LNP внутрь клеток.

8.18. ПЕРСПЕКТИВЫ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОЛИ-ГАММА-ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ, ПРОДУЦИРУЕМОЙ ГАЛОФИЛЬНЫМИ БАКТЕРИЯМИ *Bacillus velezensis*

Дунатов Н.Н.¹, Кузина М.С.², Сизига Е.Н.², Величко Н.С.², Федоненко Ю.П.^{1,2}

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, Саратов

²ФИЦ СНЦ РАН, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов
nikitalipat@yandex.ru

Гамма-полиглутаминовая кислота (ПГК) - биополимер, состоящий из остатков L/D-глутаминовой кислоты. Характерными свойствами ПГК являются водорастворимость, биоразлагаемость, отсутствие токсичности для человека и окружающей среды, благодаря чему она нашла применение в сельскохозяйственной отрасли, косметологии, фармацевтике, переработке пищевых продуктов, очистки сточных вод и в других областях. Микробный синтез ПГК в отличие от химического является эффективным и экономичным. Отмечено, что представители рода *Bacillus* являются активными продуцентами ПГК, в том числе при культивировании на непивеом сырье, что существенно удешевляет производство полимера.

Из образцов соли озер Эльтон и Боткуль (Волгоградской области) выделены продуцирующие экстраклеточные полимерные субстанции изоляты 121 и B221, которые по культурально-морфологическим, биохимическим признакам и последовательности гена 16S рРНК были идентифицированы как *Bacillus velezensis*. Из культуральной жидкости выращенных до окончания экспоненциальной фазы роста штаммов *B. velezensis* 121 и B221 осаждением холодным этанолом были получены полимеры с выходом 2,5 и 2,9 г на 1 г сухих бактериальных клеток соответственно. Были получены предварительные данные по оптимизации условий культивирования *B. velezensis* на различных субстратах (глицерин, лимонная кислота) с целью максимизации выхода целевого продукта. По результатам тонкослойной и высокоэффективной жидкостной хроматографии гидролизатов полимеров было установлено присутствие единственного компонента - глутаминовой кислоты (Глу). Абсолютная конфигурация Глу была установлена методами ГЖХ метиловых эфиров и спектроскопии КД ФИТЦ меченных производных Глу. Для полученных полимеров были охарактеризованы эмульгирующая активность в отношении ряда гидрофобных субстратов (о-ксилол, керосин и растительное масло), антиоксидантная активность (DPPH, ABTS, пирогаллол), влагоудерживающая способность, вязкость, которые позволяют оценить перспективность использования выделенных ПГК в различных биотехнологиях.

Работа выполнялась при финансовой поддержке Российского научного фонда № 24-24-00407 (<https://www.rscf.ru/project/24-24-00407/>).

8.19. ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ СИНТЕЗА РЕКОМБИНАНТНОГО КАПСИДНОГО БЕЛКА VP1 ВИРУСА ПОЛИОМИЕЛИТА В РАСТЕНИЯХ РОДА *Nicotiana*

Мартыросян Л.Ю.^{1,2,3}, Орехова Е.С.¹, Хабибуллин Н.Р.¹, Якупова Р.Д.¹, Деревянко А.О.¹, Ивин Ю.Ю.¹

¹ФНЦ исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова (Институт полиомиелита), Москва

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

³Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва
levon-agro@mail.ru

Вирус полиомиелита (полиовирус) - человеческий вирусный патоген, вызывающий детский спинномозговой паралич, высококонтагиозное заболевание, сопровождающееся патологией нервной системы. В настоящий момент существует задача по глобальной ликвидации циркуляции вируса полиомиелита как дикого, так и вакцинного происхождения. В связи с этим проводятся работы по разработке вакцин на основе рекомбинантных вирусных белков (антигенов) или вирусоподобных частиц. Благодаря такому подходу возможно предупредить распространение вируса полиомиелита вакцинного происхождения в окружающей среде.

Для синтеза вирусных антигенов используют различные системы экспрессии, включая бактериальные клетки, дрожжи, клетки насекомых, растения и клетки млекопитающих. Особого внимания заслуживает растительная система экспрессии ввиду ее масштабируемости, способности к посттрансляционным модификациям, а также отсутствия человеческих патогенов.

В данной работе была проведена оптимизация синтеза капсидного белка вируса полиомиелита VP1 в растениях табака. Для этого была получена генно-инженерная конструкция на основе вектора pEff [1], кодирующая ген белка VP1. Агроинфильтрацию растений проводили с использованием агробактерий вида *R. radiobacter*, штаммов *EHA105*, *GV3101* и *AGL0* варьруя оптическую плотность агробактериальной суспензии. Растения рода *Nicotiana* видов *Benthamiana* и *Tabacum* выращивали 2 способами: с использованием аэропоники - бессубстратного метода культивирования растений, и в вегетационных сосудах с почвогрунтом при световом дне 16/8 и влажности 85%. Относительное количество целевого белка оценивали методом вестерн-блот гибридизации. В результате были подобраны условия для эффективного синтеза рекомбинантного капсидного белка VP1 вируса полиомиелита в растительной системе экспрессии.

Литература

1. Efficient Transient Expression of Recombinant Proteins in Plants by the Novel pEff Vector Based on the Genome of Potato Virus X. Mardanov ES, Blokhina EA, Tsybalova LM, Peyret H, Lomonosoff GP, Ravin NV. Front Plant Sci. 2017 Feb 28;8:247. doi: 10.3389/fpls.2017.00247. eCollection 2017. 10.3389/fpls.2017.00247

8.20. ЭНДОЛИЗИН БАКТЕРИОФАГА T5 КАК НОВЫЙ ПАРТНЁР ДЛЯ ПРОДУКЦИИ РАСТВОРИМЫХ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ

Матишинец А.В.¹, Чернышов С.В.², Степаненко В.Н.³, Микулинская Г.В.²

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва

²Филиал ГНЦ РФ Института биоорганической химии им. академиков М.М.
Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущино

³Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет),
Институт трансляционной медицины и биотехнологии, Москва
matishinetz.artiom@yandex.ru

Продукция в клетках *Escherichia coli* - распространённый путь получения биотехнологически важных рекомбинантных белков, прежде всего ферментов. Однако, ряд ферментов эукариот или неродственных *E. coli* бактерий продуцируется в клетке в виде телец включения, т.е. нерастворимых и неактивных белковых агрегатов. Одним из способов повышения растворимости рекомбинантных белков является их химеризация с белками-партнёрами, которые сами, обладая нативной структурой глобулы, направляют сворачивание слитого с ними белка, что приводит не только к повышению растворимости, но и к восстановлению его функции.

В качестве нового варианта белка-партнёра нами был предложен эндолизин бактериофага T5 (EndoT5). Выбор был обусловлен небольшим размером, высоким уровнем продукции, нетоксичностью для клетки, хорошей растворимостью и устойчивостью структуры этого глобулярного белка в широком диапазоне условий. В качестве целевого белка использовали TEV-протеазу (от англ. *tobacco etch virus* - вирус гравировки табака), которая накапливается в клетках кишечной палочки практически полностью в нерастворимой форме вследствие образования агрегатов.

Были созданы две генетические конструкции: первая - с природным EndoT5, вторая - с мутантным EndoT5D130A, лишённым каталитической активности. Оба варианта гена белка-партнёра соединяли с последовательностью гена TEV-протеазы посредством линкера с сайтом узнавания TEV-протеазы. Индукцию вели в двух температурных условиях: при 37°C и 21°C. Контролем служила плазмида, несущая TEV-протеазу без белка-партнёра. Было показано, что растворимость TEV-протеазы, слитой с природным EndoT5, увеличилась с 5% до 70% и 90% при 37°C и 21°C соответственно; для TEV-протеазы с мутантным EndoT5D130A этот же показатель составил соответственно 55% и 65%. При продукции наблюдалось ауторасщепление химерного белка по сайту TEV-протеазы *in vivo*, что свидетельствует о сохранности пептидазной активности целевого белка.

Таким образом, как EndoT5, так и EndoT5D130A - перспективные белки-партнёры, которые планируется использовать в дальнейшей работе для повышения растворимости других рекомбинантных белков-ферментов при гетерологичной продукции.

8.21. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЗОТФИКСИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ РИЗОСФЕРНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Наводкина Е.С., Исаков Д.В.

Астраханский государственный технический университет, Астрахань
p-jenya98@mail.ru

Азот - ключевой элемент в биогеохимическом цикле, но в молекулярной форме он недоступен многим организмам. Для его включения в круговорот первичными продуцентами необходима биологическая фиксация, осуществляемая микроорганизмами. Азот является лимитирующим фактором в агросистемах, что требует внесения удобрений. Использование минеральных азотных удобрений экономически невыгодно и вредно для экологии, что делает исследования по азотфиксации как никогда актуальными.

Цель исследования - первичный скрининг азотфиксирующей активности коллекционных штаммов микроорганизмов методом капиллярного электрофореза.

Объекты исследования: коллекционные штаммы ризосферных микроорганизмов - КА10, ГСМ19 и БКСМ20.

Колбы со 100 мл селективной жидкой среды Берка инокулировали 1 мл бактериальной суспензии 0,5 мутности по МакФарланду и культивировали на шейкерах при 180 об/мин отдельно при 25°C и 30°C, соответственно. Количество повторностей для каждого штамма - 4. Определение катионов аммония (NH_4^+) проводили на 3-й день инкубации. Анализ концентрации NH_4^+ выполняли с помощью системы капиллярного электрофореза "Капель-105М" согласно методике.

Эксперимент показал, что наибольшей азотфиксирующей активностью обладает штамм ГСМ19: концентрация NH_4^+ на 3 сутки составляет 10,5 и 13,3 мг/л при 25 и 30°C соответственно. Штамм КА10 проявил среднюю активность: 4,4 и 3,3 мг/л соответственно; БКСМ19 показал самый низкий результат: 1 и 0,8 мг/л соответственно. Повышение температуры культивирования увеличило выработку NH_4^+ у ГСМ19 на 2,8 мг/л, тогда как у БКСМ20 и КА10 она уменьшилась на 0,2 и 1,1 мг/л, соответственно. Относительно штамма CD1 (В.Ж. Нгуен, 2017) штамм ГСМ19 в аналогичных опытных условиях оказался почти вдвое эффективнее (10,5 мг/л NH_4^+ у ГСМ19 и 5,5 мг/л у CD1), что позволяет сделать вывод о высокой нитрогеназной активности нашего штамма и делает его перспективным для дальнейшего изучения в качестве основы для биологического удобрения.

8.22. ПОИСК АЛЬТЕРНАТИВНЫХ ТРАНСПОРТЁРОВ АМИНОКИСЛОТ С РАЗВЕТВЛЕННОЙ БОКОВОЙ ЦЕПЬЮ У *Corynebacterium glutamicum*

Розанцева В.В.¹, Шереметьева М.Е.¹, Дербигов Д.Д.¹, Орлов А.С.²,
Яненко А.С.¹

¹НИЦ "Курчатовский институт", Курчатовский геномный центр, Москва

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

v.rozantseva@bk.ru

Corynebacterium glutamicum - ключевой объект промышленной биотехнологии, базовый микроорганизм для создания штаммов-продуцентов аминокислот. Мы занимаемся созданием продуцентов незаменимых аминокислот валина и изолейцина, относящихся к группе аминокислот с разветвлённой боковой цепью (ВСАА). Современные методы создания продуцентов основаны на направленном редактировании генома для повышения выхода целевого вещества. Особое внимание уделяется модификациям транспортёров целевого вещества, поскольку выведение его из клетки и предотвращение обратного захвата играет важную роль в повышении продукции.

Согласно литературным данным, за экспорт и импорт ВСАА у *C. glutamicum* отвечают пермеазы BrnFE и BrnQ, соответственно (продукты генов *brnFE* и *brnQ*). Считается, что других систем транспорта ВСАА у *C. glutamicum* нет. Однако наши экспериментальные данные позволяют допустить наличие дополнительных транспортных механизмов. При разработке продуцента валина мы получили ауксотрофные по изолейцину штаммы с инактивированным геном *brnQ*, и ожидали, что их рост на минимальной среде с изолейцином будет нарушен. Но оказалось, что при концентрации изолейцина 0,15 мМ показатели их роста совпадают с таковыми для штаммов с интактным *brnQ*. В литературе отмечено, что ВСАА могут проникать в клетку путем диффузии (10 - 100 мМ). Для исключения диффузии мы сравнили рост ауксотрофных по изолейцину штаммов с интактным и инактивированным BrnQ на разных стадиях и при различных концентрациях изолейцина (0,03 - 0,12 мМ). Различий вновь не наблюдалось. Всё это заставляет предположить, что у *C. glutamicum* есть и другие механизмы поглощения ВСАА, помимо диффузии и активного импорта. Ещё одно свидетельство в пользу нашей гипотезы получено в эксперименте с биосенсором, чувствительным к внутриклеточным концентрациям ВСАА. Показано, что при одинаковой концентрации изолейцина в среде показатели относительной флуоресценции для штаммов с инактивированным и интактным *brnQ* также совпадают.

Полученные данные дали нам основание приступить к поиску альтернативного импортера ВСАА у *C. glutamicum*. Помимо этого, мы получили серию штаммов с инактивированным экспортёром BrnFE, изучение которых позволит оценить вероятность наличия у *C. glutamicum* дополнительных систем экспорта ВСАА. Открытие новых транспортёров будет полезным как для лучшего понимания генетики и физиологии коринебактерий, так и для создания на их основе продуцентов аминокислот этой группы.

8.23. ИЗУЧЕНИЕ И ФОРМИРОВАНИЕ ПОДХОДОВ БИОЗАЩИТЫ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ ОТ БАКТЕРИОЗОВ

Токмакова А.Д.^{1,2}, Лукьянова А.А.¹, Комаревцев С.К.¹, Мирошников К.А.¹

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

²Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный
anna.zem@mail.ru

За последние несколько лет в Российской Федерации наблюдается тенденция увеличения урожая зернобобовых, а также активный экспорт урожая культур этого семейства. Учитывая высокий рост производства и экспорта, отсутствие в агрохозяйствах эффективных способов защиты данных культур от бактериальных патогенов вызывает особую тревогу. В частности, существенный урон урожаю бобовых наносит ржаво-бурая пятнистость, возбудителем которой является карантинный микроорганизм - бактерия *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Cff).

Целью работы было исследование разнообразия *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* в РФ и поиск методов контроля данного патогена.

В рамках работы была собрана коллекция штаммов *Curtobacterium*, включающая в себя как изоляты, выделенные из семян зернобобовых, так и штаммы, полученные из дикорастущих растений. Для оценки генетического разнообразия штаммов, входящих в эту коллекцию, использовался метод ВОХ-фингерпринтинга. Штаммы, выделенные из семян сои, обладали практически идентичными фингерпринтами, в то время как для штаммов, выделенных из дикорастущих растений, было показано высокое разнообразие. В то же время, по фенотипическим характеристикам, существенной разницы между штаммами не было. Для выделенных групп Cff был произведен поиск литических бактериофагов и выделено семь фаговых штаммов, впоследствии определенных как представители семейства *Salasmaviridae*. Из фагов в тестовой форме был клонирован ген структурной пептидогликан-гидролазы (gp12) в составе вектора рЕЕЗ. Для полученного белка была доказана его бактериолитическая активность в отношении представителей рода *Curtobacterium*.

Таким образом, как выделенные бактериофаги, так и их рекомбинантные гидролазы могут рассматриваться в качестве потенциальных агентов биоконтроля Cff, и представляют существенный научный и практический интерес для дальнейшего изучения.

Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ №21-16-00047.

8.24. ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ ГИБРИДНЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ПИРОФЕОФОРБИДОМ *A*

Торопцева А.В.¹, Горобец М.Г.¹, Хачатрян Д.С.^{1,3}, Абдуллина М.И.¹, Колотаев А.В.³, Градова М.А.², Золотцев В.А.^{1,4}, Бычкова А.В.¹

¹Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва

²ФИЦ химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва

³НИЦ "Курчатовский институт", Москва

⁴НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва

stropdiva@yandex.ru

Актуальность разработки гибридных структур на основе наночастиц оксидов железа (МНЧ) обусловлена широким спектром медицинских применений: визуализация опухолей, гипертермия тканей и адресная доставка лекарств (ЛВ). Человеческий сывороточный альбумин (ЧСА) в настоящей работе является основным компонентом функционального и биосовместимого покрытия, предотвращающего нежелательную адсорбцию белков плазмы крови.

Нами были апробированы и реализованы три стратегии получения наносистем, включающих МНЧ и ЧСА, связанный с остатком фолиевой кислоты (ФК) по реакции ЧСА с NHS-эфиром ФК (мФК). Последовательное создание устойчивого белкового покрытия на поверхности МНЧ и конъюгация с ФК показало себя наиболее перспективной стратегией за счет агрегативной устойчивости и высокого конечного количества альбумина в составе системы.

Связывание NHS-эфира пирофеофорбида *a* (ЭПФФ) и наноструктур проводилось с применением указанной стратегии впервые. В то же время исследовались исходное соединение пирофеофорбида *a* и системы, не модифицированные белковым покрытием.

Эффективность ПФФ в качестве фотосенсибилизатора (ФС) доказана в фотодинамической терапии клеточных линий MCF-7 и MDA-MB-231. Ожидается, что применение гибридных структур позволит обеспечить адресную доставку ФС к опухолям. Ранее было выявлено, что наносистемы, модифицированные метиленовым синим (МС), могут стать носителем МС. Доказано связывание ПФФ и ЭПФФ с гибридными наносистемами.

Исследования по созданию гибридных наносистем проводятся при финансовой поддержке Российского научного фонда № 22-75-10150, <https://rscf.ru/project/22-75-10150/>. Работа выполнена с использованием научного оборудования ЦКП "Исследовательский химико-аналитический центр НИЦ "Курчатовский институт" и ЦКП "Новые материалы и технологии" ИБХФ РАН при поддержке из средств федерального бюджета Министерства науки и высшего образования РФ в рамках Государственного задания ИБХФ РАН.

8.25. МОДИФИКАЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ АДРЕСНОЙ ТЕРАПИИ HER2-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ

Фуртак Е.Д., Зверева С.Д., Шипунова В.О.

Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Институт биофизики будущего, Долгопрудный
furtak.ed@phystech.edu

Онкологические заболевания являются на сегодняшний день одной из главных проблем здравоохранения. Традиционная и широко применяемая химиотерапия является эффективным методом лечения, однако связана с большим количеством побочных эффектов. Для их предотвращения используют различные стратегии направленной доставки лекарств в область опухоли. Такая доставка может осуществляться за счёт активной адресной доставки, реализуемой за счёт лиганд-рецепторного взаимодействия. При разработке адресных препаратов важно отслеживать специфичность взаимодействия лекарственной формы с целевыми клетками, поскольку правильный выбор мишени является основой для разработки эффективного лечения.

HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2) - это белок, который принадлежит к семейству рецепторов эпидермального фактора роста (EGFR). Он кодируется геном *ERBB2* и является трансмембранным белком. Рецептор HER2 играет важную роль в регуляции клеточного роста, деления и выживания. В норме он экспрессируется в низких концентрациях в различных тканях, однако его избыточная экспрессия наблюдается при различных типах раковых заболеваний, до 20% случаев рака молочной железы.

Данная работа сосредоточена на создании клеточных линий, которые могли бы быть использованы в качестве корректного отрицательного контроля при тестировании препаратов для направленной терапии на раковые клетки со сверхэкспрессией HER2. Правильно поставленный отрицательный контроль помогает установить, что наблюдаемые эффекты действительно связаны с тестируемым препаратом, а не с другими факторами, поэтому он необходим при проверке эффективности лечения. Наличие внесённых мутаций в клеточные линии было продемонстрировано методами ПЦР проверки и методом секвенирования по Сенгеру. Кроме того, отсутствие рецептора HER2 на поверхности клеток было подтверждено методом проточной цитометрии.

Полученные в ходе исследования HER2-отрицательные клеточные линии являются эффективным инструментом для оценки эффективности адресных препаратов и верификации их истинной специфичности при взаимодействии с клетками-мишенями *in vitro* и *in vivo*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России проект FSMG-2023-0015.

8.26. ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ СИНТЕЗА АНАЛОГОВ 2'-ДЕЗОКСИАДЕНОЗИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ТРАНСГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ

Шемет Е.Ю.¹, Берзина М.Я.², Константинова И.Д.²

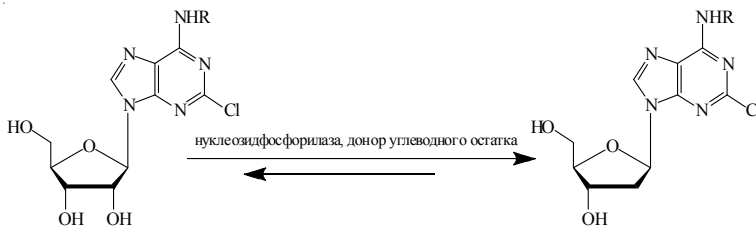
¹МИРЭА - Российский технологический университет, Институт тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова, Москва

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

Электронный адрес: shemet-liza@mail.ru

Природные нуклеозиды играют ключевую роль в фундаментальных биохимических процессах, таких как передача энергии и сигналов внутри клетки, а также служат структурными компонентами ДНК и РНК. Широкий спектр функций и участие нуклеозидов в различных ферментативных процессах клетки открывают возможности для их применения в терапии заболеваний. Например, в клинической практике лечения лимфобластных заболеваний системы кроветворения, а также при терапии рассеянного склероза используется препарат кладрибин (2-хлор-2'-дезоксаденозин).

Ранее нами был синтезирован ряд структурных аналогов аденозина, модифицированных по положению N⁶ 2-хлораденозина различными аминокислотами и их восстановленными формами. Применение реакции ферментативного трансгликозилирования с использованием рекомбинантной пурииннуклеозидфосфорилазы (PNP) *E. coli* позволяет осуществить простой и эффективный синтез 2'-дезоксирибозидов (аналогов кладрибина) на основе полученных соединений. Для оптимизации условий реакции трансгликозилирования был проведен ряд экспериментов, включающих подбор донора 2'-дезоксирибозы, определение оптимального соотношения донора и акцептора (рибозида с модифицированным гетероциклическим основанием), а также количества применяемого фермента.



Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ (проект 24-14-00458).

8.27. ТЕХНОЛОГИЯ СМФ-ЦИТОБЛОКАДЫ КАК ИНСТРУМЕНТ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ НАНОАГЕНТОВ ДЛЯ ТЕРАПИИ СОЦИАЛЬНО-ЗНАЧИМЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Шипунова В.О.

Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Институт биофизики будущего, Долгопрудный
viktoriya.shipunova@phystech.edu

На сегодняшний день приоритетным направлением работ в области современной биомедицины является персонализированный подход, основанный на высокоточной ранней диагностике и своевременной терапии на ранних стадиях заболеваний. При разработке методов как диагностики, так и терапии социально-значимых заболеваний значительное внимание направлено на использование наноразмерных объектов и супрамолекулярных структур на их основе, которые демонстрируют уникальные характеристики, не присущие низкомолекулярным соединениям. Однако на сегодняшний день весь потенциал использования наноагентов в биомедицине не используется в полной мере ввиду быстрого выведения наноструктур из кровотока при системном внутривенном введении. Одним из наиболее перспективных решений данной проблемы является технология цитоблокады системы мононуклеарных фагоцитов - СМФ-цитоблокады, которая основана на Fc-опосредованном эритрофагоцитозе, вызывающем "отвлечение" макрофагов на переработку небольшой частиц собственных эритроцитов организма, что позволяет продлить циркуляцию в кровотоке практически любых наноструктур в кровотоке вплоть до 32 раз и значительно усилить их диагностические и терапевтические свойства.

В данном докладе будет представлена серия работ, направленных на разработку адресных наноагентов в комбинации с СМФ-цитоблокадой для терапии социально-значимых заболеваний (сердечно-сосудистых и онкологических), и будут представлены будущие направления исследований, направленные на повышение эффективности адресных наноагентов в медицине.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ № 22-73-10141.

8.28. РАЗРАБОТКА БИОСОВМЕСТИМЫХ АГЕНТОВ ДЛЯ ФОТОТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Юрѳева А.М., Шипунова В.О.

Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Институт биофизики будущего, Долгопрудный
Iureva.am@phystech.edu

Проблема серьёзных побочных эффектов при лечении онкологических заболеваний остаётся по-прежнему актуальной на данный момент. Согласно статистике Всемирной организации здравоохранения, заболеваемость разнообразными типами рака повышается. Несмотря на успехи в снижении летальности многих онкологических заболеваний, нецелевая токсичность химиотерапевтических препаратов и лучевой терапии существенно снижает качество жизни пациентов. Для того, чтобы приблизиться к решению этой глобальной проблемы, необходимо развитие инновационных методов адресной терапии.

Одним из таких методов является фототерапия. Она позволяет воздействовать внешним источником излучения исключительно на область опухоли, не повреждая другие ткани и органы. Для обеспечения фотоиндуцированной гибели опухолевых клеток необходимо доставить в опухоль фотосенсибилизаторы - вещества, способные конвертировать электромагнитную энергию в тепловую или энергию реакции получения активных форм кислорода. Наночастицы на основе сополимера молочной и гликолевой кислот (PLGA) являются перспективным агентом для доставки фототерапевтического препарата в области опухоли. Данные наночастицы являются биосовместимыми и метаболизируются в организме, не вызывая негативных реакций. При этом, размер порядка 200 нм и возможность модификации поверхности лигандами, нацеленными на клетки опухоли, способствуют высокой эффективности полимерных нанокапсул для доставки активного вещества в область опухоли. В данном исследовании были разработаны биосовместимые агенты для фототерапии солидных опухолей на основе наночастиц из PLGA. В полимерную капсулу были включены квантовые точки, которые эффективно конвертируют энергию излучения лазера с длиной волны 808 нм в тепловую энергию. Длина волны излучения данного лазера соответствует окну прозрачности тканей организма, что увеличивает глубину проникновения ИК-света. Были исследованы фототермические свойства наночастиц *in vitro* и *in vivo*, у лабораторных грызунов с моделью опухоли молочной железы. Данная работа открывает новые горизонты для применения фототерапии в клинической практике.

Исследование было поддержано Минобрнауки России, проект FSMG-2023-0015.

СЕКЦИЯ 9 БИМЕДИЦИНСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

9.1. КОНЬЮГАТ ИБУПРОФЕНА И ЭНАЛАПРИЛА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ЛИГАНД МОНОМЕРНОЙ И ПРОТОФИБРИЛЛЯРНОЙ ФОРМ β -АМИЛОИДНОГО ПЕПТИДА

Аликова В.Д., Дерюшева Е.И., Шевелёва М.П., Немайшалова Е.Л.,
Вологжанникова А.А., Литус Е.А.

ФИЦ "Пушинский научный центр биологических исследований РАН" -
Институт биологического приборостроения с опытным производством
РАН, Пушкино
alikovalera@mail.ru

На сегодняшний день накоплены данные, указывающие на снижение риска развития болезни Альцгеймера (БА) у пожилых пациентов, длительно принимающих ибупрофен (IBU) в качестве противовоспалительного средства. В ходе нашего исследования было выявлено, что IBU усиливает взаимодействие мономерной формы β -амилоидного пептида (А β) с человеческим сывороточным альбумином (ЧСА) - основным "депо" А β в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости. Кроме того, в наших экспериментах IBU усиливал ингибирующую активность ЧСА в отношении образования фибрилл А β , а, согласно литературным данным, при определённых условиях IBU способен самостоятельно препятствовать этому процессу. В ходе исследования также было установлено, что эналаприлат, являющийся лигандом ЧСА, способен увеличивать сродство альбумина к мономерной форме А β и его ингибирующую активность в отношении образования фибрилл А β . Настоящая работа направлена на разработку и оценку с использованием методов *in silico* модифицированной формы IBU с выраженной способностью ингибировать процесс фибриллообразования А β и обладающей более высокой эффективностью в модулировании взаимодействия А β с ЧСА по сравнению с исходным IBU. На первом этапе исследований было проведено моделирование взаимодействия конъюгата IBU и эналаприла с мономерной (mА β) и протофибриллярной (fА β) формами А β . Трёхмерная модель структуры конъюгата IBU (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3672>) и эналаприла (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5388962>) были созданы с использованием ChemDraw и оптимизирована в силовом поле ММ2. Для моделирования комплексов конъюгата с mА β (PDB ID: 2LFM) и fА β (PDB ID: 2LMN) использовалась программа AutoDock Vina. Рассчитанные логарифмы констант диссоциации для комплексов конъюгата с mА β и fА β составили -4,40 и -5,60, соответственно, тогда как для немодифицированной формы IBU эти значения были равны -3,66 и -5,33. Таким образом, конъюгат эналаприла и IBU представляет собой перспективный лиганд А β . Способность данного соединения ингибировать образование фибрилл А β и модулировать взаимодействие А β с ЧСА требует дальнейших исследований *in vitro*. В случае положительных результатов такое соединение может рассматриваться как потенциальный кандидат для разработки новых подходов к терапии БА.

9.2. НАНОЧАСТИЦЫ НА ОСНОВЕ НИТРИДА ГАФНИЯ КАК МЕДИАТОРЫ ФОТОТЕРМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ И РАДИОТЕРАПИИ

Бабкова Ю.С.¹, Горелик Л.В.^{1,2}, Зелепукин И.В.^{1,3}, Деев С.М.^{1,2}

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

²Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ", Москва, Россия

³Уппсальский университет, Уппсала, Швеция

babkovaserg@gmail.com

В настоящее время в биомедицине широко исследуются металлические наночастицы с плазмонным резонансом и высоким атомным номером благодаря возможности их использования как медиаторов радио-, фототермической и фотодинамической терапии. Наночастицы на основе нитрида гафния HfN, полученные методом лазерной абляции в органическом растворителе, показывают низкую токсичность и отличные фототермические свойства в окне прозрачности биологических тканей, а также могут быть использованы для радиотерапии и визуализации опухолей рентгеновским излучением благодаря высокому атомному числу гафния ($Z = 72$).

В данном исследовании были получены наночастицы на основе нитрида гафния, покрытые полиэтиленгликолем (ПЭГ) для обеспечения коллоидной стабильности в физиологических условиях. Было показано, что наночастицы обеспечивают сильный фототермический эффект при облучении 808 нм лазером, фототермический коэффициент конверсии составил 60%, что сопоставимо с лучшими значениями, полученными для плазмонных наночастиц. Исследование фототермического эффекта *in vitro* на раковых линиях клеток подтвердило высокую эффективность наночастиц на основе HfN при облучении 808 нм лазером. Кроме того, была показана радиотерапевтическая эффективность наночастиц *in vitro* при облучении клеток рентгеновским излучением. Тесты на клеточных культурах и здоровых мышах показали низкую токсичность наночастиц на основе HfN с покрытием ПЭГ для различных тканей и органов. Наконец, были продемонстрированы возможности использования наночастиц для визуализации и терапии опухолей *in vivo* на мышиной модели. Скорость роста опухолей была значительно снижена у мышей, которым вводили наночастицы HfN в качестве медиаторов фототермической терапии или радиотерапии. Значительное усиление фототермической терапии и радиотерапии, а также возможность визуализации при выполнении компьютерной томографии и низкая токсичность делают полученные методом лазерной абляции наночастицы на основе HfN многообещающим материалом для терапии опухолей и иных применений в биомедицине.

Данная работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, договор № 075-15-2024-536.

9.3. СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ РЕЦЕПТОРЫ ДОФАМИНА, СЕРТОНИНА, ГЛУТАМАТА, С РИСКОМ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Берёзов А.Ю., Кокаева З.Г., Нефёдова Л.Н.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва
al.berezov@gmail.com

Болезнь Паркинсона (БП) - тяжелое нейродегенеративное заболевание, по распространенности в мире занимает второе место после болезни Альцгеймера. Болезнь характеризуется гибелью дофаминергических нейронов в черной субстанции стриатума и накоплением телец Леви в спинном и головном мозге. У пациентов с болезнью Паркинсона могут быть различные комбинации симптомов и разные скорости прогрессирования заболевания. Согласно современным представлениям в патогенезе БП может участвовать дисфункция дофаминергической и других видов нейротрансмиссии.

Цель исследования - изучение влияния полиморфных вариантов генов трех нейротрансмиссивных систем в развитии болезни Паркинсона: дофаминергической - *DRD2* (rs6277, rs12364283, rs2283265), *SLC6A3* (rs2652510), серотонинергической - *HTR2A* (rs6311), глутаматергической - *GRIN2B* (rs7301328, rs1806201) у жителей Московского региона.

Для анализа аллельного состояния генов использовалась ПЦР-РВ (полимеразная цепная реакция в режиме реального времени) с TaqMan зондами (ООО "ДНК-синтез").

В результате проведенных экспериментов на выборке из 203 пациентов и 213 контролей для замены rs1806201 в гене *GRIN2B* кодирующего рецепторы глутамата впервые установлена ассоциация рецессивных аллелей CC с БП ($p=1,8E-7$; OR=3,07; CI95% [1,97-4,83]). Рецепторы глутамата участвуют в возбудимости нейронов, синаптической пластичности, однако избыточная активация его рецепторов может привести к гибели нейронов. По генам *DRD2* установлена ассоциация аллелей GG замены rs12364283 с БП ($p=5,6E-3$; OR=1,79; CI95% [1,17-2,74]). Для замены rs6277 установлена ассоциация аллелей GG с БП ($p=8,0E-4$; OR=2,39; CI95% [1,41-4,13]). На выборке из России исследование проведено впервые. По гену *HTR2A* (rs6311), кодирующему рецептор серотонина, подтверждена ассоциация замены (аллели TT) с БП. Для замены rs2652510 гена *SLC6A3* транспортера дофамина в работе установлена ассоциация рецессивных аллелей GG с БП ($p=6,1E-7$; OR=3,73; CI95% [2,13-6,67]). Данные, полученные при генотипировании, были взяты для анализа комплексных генотипов с помощью программы APSampler. Наши результаты подтверждают комплексное совместное действие полиморфных вариантов на риск sporadicческой болезни Паркинсона (при этом степень риска не высокая). В работе показано, что в патогенезе болезни принимают участие несколько нейротрансмиссивных систем, подтвержден вклад рецепторов серотонинергической, глутаматергической, рецепторов и транспортёров дофаминергической систем в развитии болезни Паркинсона.

9.4. ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ГЛУБОКОГО ОБУЧЕНИЯ ДЛЯ СРАВНИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗА НЕЯВНЫХ ПАТТЕРНОВ КОЭКСПРЕССИИ КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ДЛИННЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК

Бородин И.П.^{1,2}, Соловьев Я.В.¹, Евпак А.С.¹, Белогуров А.А.¹

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

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

feawenger@gmail.com

Данное исследование посвящено изучению паттернов коэкспрессии семи клинически значимых длинных некодирующих РНК (днРНК) [1-2]: NR2F1-AS1, LY6E-DT, SNHG1, MIR200CHG, RARA-AS1, MALAT1, и HOTAIR, относительно уровней экспрессии 62541 РНК (полного транскриптома) для 6 групп онкологических заболеваний разных органов (толстый кишечник, печень, щитовидная железа, предстательная железа, легкие и матка). Для описания зависимостей между экспрессиями целевых днРНК и РНК остального транскриптома в нормальных и малигнизованных тканях были построены 12 регрессионных моделей машинного обучения на базе архитектуры линейной многослойной нейронной сети для каждой группы аденокарцином.

Для всех исследуемых днРНК удалось получить качественные модели для предсказания уровня экспрессии в нормальных тканях, при этом для опухолевых тканей не удалось построить качественные модели для днРНК LY6E-DT и HOTAIR. При кросс-валидации построенных моделей для нормы хорошее качество предсказания удалось получить для MALAT1, среднее качество - для NR2F1-AS1 и SNHG1. В случае аденокарцином наблюдалась схожая картина: высокое качество оценки для MALAT1 и среднее качество - для SNHG1. При этом для NR2F1-AS1 приемлемое качество кросс-валидации сохранялось только для некоторых диагнозов. Оценка уровня экспрессии целевых днРНК в норме по опухолевым моделям (и наоборот) показала хорошее качество в отдельных случаях, но этого систематически не наблюдалось для LY6E-DT и HOTAIR. Важно отметить, что качество кросс-валидации практически не зависит от схожести распределения целевой днРНК в обучающем и тестовом наборе данных, а также от числа и характера распределения общих признаков (отдельных РНК), используемых для построения модели. Полученные данные свидетельствуют о способности современных алгоритмов глубокого обучения находить неявные закономерности в коэкспрессии различных РНК, что делает их более точным методом для характеристики и сравнения различных когорт образцов.

Это исследование было спонсировано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение 075-15-2024-536).

Литература

1. Liu Y. et al. Long non-coding RNA NR2F1-AS1 induces breast cancer lung metastatic dormancy by regulating NR2F1 and DNp63//Nature communications. 2021. V.12. No1. P.5232.
2. Huang Y. et al. LncRNA RARA-AS1 could serve as a novel prognostic biomarker in pan-cancer and promote proliferation and migration in glioblastoma//Scientific Reports. 2023. V.13. No1. P.17376.

9.5. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АЛГОРИТМОВ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ РИСКОВ РАЗВИТИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Бруттан М.В.¹, Иванов М.В.¹, Капитанова Д.А.¹, Мамчур А.А.¹, Джуманиязова И.Х.¹, Даниэль В.В.¹, Зеленова Е.А.¹, Яковчик А.Ю.¹, Гусакова М.С.¹, Румянцева А.М.¹, Терехов М.В.¹, Митрофанов С.И.¹, Некрасова А.И.¹, Акопян А.А.², Стражеско И.Д.², Ткачева О.Н.², Юдин В.С.¹, Макаров В.В.¹, Краевой С.А.¹, Юдин С.М.¹

¹Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью ФМБА России, Москва

²РНМУ им. Н.И. Пирогова - Российский геронтологический научно-клинический центр, Москва

MBruttan@cspfmba.ru

Ввиду высокой популярности полногеномных исследований в современном мире имеются данные о большом количестве локусов, связанных с различными многофакторными заболеваниями. Однако, встает вопрос о разработке подходов, позволяющих объединять сразу несколько факторов для предсказания индивидуальных рисков развития социально значимых патологий. Решением данной проблемы могут стать полигенные шкалы риска (ПШР), предполагающие оценку совместного вклада нескольких полиморфизмов и негенетических факторов в определение риска. Цель данного исследования заключалась в разработке подхода к построению и валидации ПШР на основании генетических данных на примере прогнозирования когнитивных нарушений у долгожителей.

Для отбора полиморфизмов при построении ПШР использовались результаты проведенного полногеномного поиска ассоциаций с когнитивными нарушениями у 1155 долгожителей, где пол и возраст вводились в качестве ковариат. ПШР представляла классификатор на базе гребневой регрессии, построенный с использованием библиотек statsmodels и scikit-learn языка программирования Python v3.8. Для определения оптимальных параметров модели проводился поиск величины параметра регуляризации по установленному набору возможных значений и определялось минимально необходимое количество однонуклеотидных замен, максимизирующих F1-метрику модели. Итоговая модель включала в себя 45 полиморфизмов в генах *APOE*, *APOC1*, *ТОММ40*, *ATP8B1*, *DKK3*, *SV2C*, *GRIK3* и межгенных участках, а также пол и возраст.

Валидация модели проводилась на 50 долгожителях с сохраненными когнитивными функциями и 50 долгожителях с резко сниженными когнитивными функциями, которые не входили в основную выборку (ROC AUC=0,69).

Разработанный алгоритм создания ПШР позволяет обучать модели прогнозирования рисков развития у человека заболеваний с учетом вклада набора полиморфизмов. Созданная ПШР для предсказания когнитивных нарушений у долгожителей показывает хорошую прогностическую значимость и может быть использована в области гериатрии.

9.6. ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ИМПУЛЬСНЫМ РЕЖИМОМ ОБЛУЧЕНИЯ

Буреев П.А., Игнатова Н.И., Елагин В.В.

Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава РФ - НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий, Нижний Новгород
bureev.pavel34@gmail.com

В связи с ростом числа инфекционных заболеваний, вызванных антибиотикорезистентными бактериями, появляется необходимость поиска новых методов борьбы с ними. Одним из таких методов может быть антибактериальная фотодинамическая терапия (АФДТ). Обычно для АФДТ применяется лазер с непрерывным режимом излучения. Такая терапия, хоть и оказывается вполне успешной, имеет ряд недостатков. Целью данной работы было изучение возможностей инактивации уропатогенных штаммов грамотрицательных бактерий АФДТ с Фотодитазином и импульсным режимом облучения.

В работе использовались штаммы *Escherichia coli*, выделенные от пациентов с мочекаменной болезнью и хранящиеся в музее НИИ ЭО и БМТ.

Эксперименты проводились на суточных культурах микроорганизмов, разведенных до концентрации $1,5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл. К полученной суспензии добавляли Фотодитазин до конечной концентрации 50 мкг/мл, а также Triton X-100 или хлорид кальция (5% и 0,05М, соответственно), чтобы увеличить проникновение фотосенсибилизатора внутрь клетки. После инкубации в темноте в течение 15 минут подвергали образцы облучению лазером.

Облучение лазером в непрерывном режиме проводилось в течение 10 минут и в импульсном режиме в течение 17 минут 44 секунд с длительностями импульса и паузы 10 мс. Выходная мощность составляла 300 или 450 мВт. Эффективность АФДТ оценивали по значению процентного сокращения КОЕ.

В ходе исследования установлено, что эффективность АФДТ в присутствии только Фотодитазина была одинаковой для непрерывного и импульсного режимов в случае выходной мощности 300 мВт. При использовании выходной мощности 450 мВт, эффективность АФДТ с импульсным режимом облучения была ниже, чем при непрерывном. Добавление Triton X-100 приводило к повышению эффективности АФДТ для обоих режимов облучения. Добавление хлорида кальция приводило к повышению эффективности только при использовании импульсного режима облучения с выходной мощностью 450 мВт. Наибольшее значение сокращения КОЕ при использовании импульсного режима облучения было достигнуто с помощью комбинации выходной мощности 450 мВт и добавления Triton X-100 и составило 99,84%, что позволяет рассматривать АФДТ в качестве альтернативы антибиотикам.

9.7. ДИАГНОСТИКА ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ С ГИПЕРЭКСПРЕССИЕЙ HER2-РЕЦЕПТОРА ПОСРЕДСТВОМ ДАРПИНА

Вараксина Т.Ю.¹, Миркасымов А.Б.^{2,3}, Файзуллин А.Л.³, Звягин А.В.^{2,3}, Деев С.М.^{2,3}

¹Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный

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

³Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова МЗ РФ (Сеченовский Университет), Москва
varaksina.tiu@phystech.edu

Перитонеальный рак - это агрессивная форма рака, часто возникающая в результате метастазирования из первичных опухолей, таких как рак яичников или желудка. При этом HER2 (human epidermal growth factor receptor 2) - положительный статус связан с уменьшением выживаемости и клинико-патологическими особенностями прогрессирования опухоли, такими как серозная инвазия, метастазы и более поздняя стадия заболевания. С недавним появлением молекулярно-таргетной терапии HER2 определение статуса HER2 имеет решающее значение для отбора пациентов, которым может быть полезно это лечение. Диагностика данного типа рака может быть выполнена с использованием моноклональных антител, таких как трастузумаб, либо с помощью альтернативных молекул, таких как белки анкириновых повторов (DARPin), в частности Darpin 9_29, обладающий рядом преимуществ таких как малый размер и высокая стабильность.

В данной работе специфичность связывания моноклонального антитела трастузумаба или белков анкириновых повторов Darpin 9_29 с HER2 была определена с помощью проточной цитометрии, которая позволяет оценить экспрессию исследуемого рецептора на поверхности клеток после инкубации с мечеными красителем молекулами. С помощью флуоресцентной микроскопии было показано специфическое окрашивание HER2 положительных клеток. Проведенная иммуногистохимия показала гиперэкспрессию HER2 в метастазах рака яичника в мышинной модели. Полученные результаты имеют важное значение для визуализации опухолевых очагов при перитонеальном канцероматозе.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2024-536.

9.8. ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ СОЛЕЙ ХИТОЗАНА

***Волкова М.В.**^{1,2}, **Марков П.А.**², **Егоров С.А.**¹, **Скакунова Т.Ю.**³, **Гасанов Р.Р.**³, **Глушков А.А.**³, **Еремин П.С.**², **Ковалевский Я.Б.**¹*

¹Химическая компания "Орион", Санкт-Петербург

²Национальный медицинский исследовательский центр реабилитации и курортологии, Москва

³Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург
biotech.volkova@list.ru

Использование водорастворимых солей хитозана значительно упрощает технологический процесс, а также позволяет включать в состав изделий различные лекарственные средства и другие компоненты. Кроме того, производные хитозана отличаются по биологическим свойствам. Разработаны технологии получения губок из лактата и гликолата хитозана, в том числе содержащих гидроксиэтилдиметилдигидропиримидин (ГЭДП) - химическое соединение, стимулирующее заживление ожоговых ран и трофических язв. Биосовместимость губок из солей хитозана оценивали *in vitro* на культуре мезенхимальных стволовых клеток (ММСК) человека и *in vivo* на модели механической травмы у крыс.

Установлено, что при совместной инкубации губок ММСК изделия не влияют на морфологию клеток и их метаболическую активность. При этом, питательные среды, содержащие экстрагируемые компоненты материалов, стимулируют метаболическую активность клеток. Экстракт губки гликолата хитозана в концентрации менее 10 мг/мл, вызывают повышение метаболической активности ММСК на 50%. Экстракт губки лактата хитозана стимулируют метаболическую активность ММСК на 20-30%, во всем диапазоне концентраций. Экстракты из губок, содержащих ГЭДП, при концентрации менее 5 мг/мл, незначительно стимулируют метаболическую активность ММСК от 5 до 25%, по сравнению с контролем. В ходе исследований материалов на модели механической травмы установлено отсутствие избыточного воспаления в тканях раны после взаимодействия с материалами. Губки из лактата хитозана способствуют быстрому стягиванию и заживлению раны, в то время как губки из гликолата хитозана и губки с ГЭДП больше стимулируют образование грануляционной ткани у крыс по сравнению с контрольными ранами, не подвергнутыми лечению.

Таким образом, все разработанные материалы могут использоваться как самостоятельные медицинские изделия для закрытия ран, так и в качестве каркасов для изготовления биомедицинских клеточных продуктов.

9.9. РАЗРАБОТКА БИОСОВМЕСТИМЫХ НАНОКОНСТРУКЦИЙ НА ОСНОВЕ АПКОНВЕРТИРУЮЩИХ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ РАСТВОРЕННОГО КИСЛОРОДА

Волчок А.А.^{1,2}, Хайдуков К.В.^{3,4}, Волостных М.В.³, Акасов Р.А.^{2,4}, Генералова А.Н.², Хайдуков Е.В.^{2,5}, Демина П.А.^{2,3,4}

¹Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ", Москва

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

³Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина РАН, Москва

⁴Московский педагогический государственный университет, Москва

⁵Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва

Volchok.sasha@me.com

В медицинской диагностике важной задачей является определение уровня кислорода в клетках и тканях живого организма. Среди подходов к детектированию уровня кислорода особое место занимают оптические сенсорные системы, работающие в режиме реального времени. В основе работы такой системы лежит оценка люминесценции метки (отдельной молекулы, наночастицы или их сочетания в единой наноконструкции) в ответ на изменение концентрации кислорода. В качестве кислород-чувствительных люминофоров могут выступать металлокомплексы Pt(II) и Pd(II) с порфиринами, однако для них характерно поглощение в УФ- и видимом диапазоне спектра, что ограничивает глубину проникновения возбуждающего излучения в биоткани. Для определения уровня кислорода в живых системах предпочтительно работать в, так называемом, "окне прозрачности" биологической ткани (650-1300 нм).

В работе был разработан подход к созданию биосовместимых конструкций на основе порфиринов палладия и апконвертирующих наночастиц (АН), способных детектировать уровень кислорода в сильно рассеивающих средах. АН обладают способностью преобразовывать свет ближнего ИК диапазона спектра в УФ- и видимое излучение, что позволяет значительно увеличить глубину проникновения возбуждающего излучения. Модификация поверхности АН $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ биосовместимыми полимерами (полиэтиленгликолем, сополимером малеинового ангидрида или полиакриловой кислотой), привела к получению наноконструкции АН-порфирират палладия (эффективность включения ~84% или 0,5 масс% содержания порфирирата палладия в наноконструкциях). Исследованы спектральные характеристики и биосовместимость полученных наноконструкций. Такие наноконструкции, благодаря возможности передачи энергии от донора (АН) к акцептору (порфирират палладия), могут быть возбуждены светом с длиной волны 975 нм и позволяют детектировать наличие кислорода по изменению интенсивности люминесценции акцептора.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 24-73-10227.

9.10. МЕТАЛЛ-ОРГАНИЧЕСКИЕ КАРКАСНЫЕ СТРУКТУРЫ ДЛЯ ТАРГЕТНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ

Гамбург Е.В.^{1,2}, Грязнова О.Ю.^{1,2}, Согомонян А.С.², Миркасымов А.Б.², Деев С.М.^{1,2}

¹Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ", Москва

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

gamburgekkt@gmail.com

Металл-органические каркасные структуры (МОКС) - новый класс пористых материалов, в узлах кристаллической решетки которых находятся атомы мультивалентных металлов, соединенных органическими молекулами. Благодаря высокой пористости, большой удельной поверхности и способности к биодegradации эти структуры имеют высокий потенциал для применения в биомедицине, особенно в качестве систем доставки лекарственных средств [1]. В данной работе были синтезированы МОКС UiO-66 на основе гафния, циркония и церия, а также исследованы в качестве таргетных систем доставки лекарств.

МОКС, полученные сольвотермальным методом, продемонстрировали структурную и коллоидную стабильность в средах, необходимых для модификации поверхности, что было подтверждено данными о гидродинамическом размере, ζ -потенциале и спектрами ИК-спектроскопии. Проведен анализ загрузки и кинетики высвобождения для нескольких красителей. Стабильность МОКС позволила использовать их в качестве таргетных систем доставки лекарств к опухолевым клеткам. Модификация поверхности с помощью таргетных молекул была изучена методом проточной цитометрии на специфических клеточных линиях.

В целом, полученные МОКС показали низкую токсичность *in vitro*. Однако перед дальнейшим их использованием в терапевтических и диагностических целях необходимо провести изучение их токсичности *in vivo*.

Данная работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, договор № 075-15-2024-536.

Литература

1. Cai, Mengru & Chen, Gongsen & Qin, Liuying & Qu, Changhai & Dong, Xiaoxv & Ni, Jian & Yin, Xingbin. (2020). Metal Organic Frameworks as Drug Targeting Delivery Vehicles in the Treatment of Cancer. *Pharmaceutics*. 12. 232. [10.3390/pharmaceutics12030232](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12030232).

9.11. КОМПОЗИТНЫЕ МАТРИКСЫ, СОДЕРЖАЩИЕ МАГНИТНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ, ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Гладких Д.А.^{1,2}, Дроздова М.Г.², Толстова Т.В.³, Сажнев Н.А.⁴, Усвалиев А.Д.⁵, Веселов М.М.⁵, Кильдеева Н.Р.⁴, Клячко Н.Л.⁵, Марквичева Е.А.²

¹Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва

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

³НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва

⁴Российский государственный университет имени А.Н. Косыгина (Технологии. Дизайн. Искусство), Москва

⁵Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

daria_gladkikh2k2@mail.ru

Биодegradуемые композитные матриксы, содержащие магнитные наночастицы (МНЧ), перспективны для тканевой инженерии, в частности для регенерации тканей, проводящих электрические биосигналы, таких как мышечная, костная, нервная и сердечная.

Целью работы было изучение композитных матриксов, полученных из смеси хитозана (Хит) и фиброина (Фб) и содержащих МНЧ магнетита (Fe₃O₄), в модели *in vitro*.

Матриксы (пленки и гидрогели) на основе сшитого дженипином Хит и содержащие МНЧ (2-10% масс.), получали из смеси Хит/Фб (1:1 w/w). Пленки (2D структуры) изготавливали методом полива, а макропористые трехмерные (3D) гидрогели - методом криоструктурирования. Отсутствие цитотоксичности всех матриксов показали методом тестирования экстрактов после инкубации в них модельных клеток линии L929 в течение 24 ч. Экстракты получали после 24 ч инкубации матриксов в среде культивирования DMEM. Кроме того, проводили длительное культивирование (7 дней) клеток L929, а также PC12 (феохромцитом крысы) и мезенхимальных стромальных клеток (МСК), выделенных из жировой ткани человека, на/в матриксах. Методом конфокальной лазерной сканирующей микроскопии и МТТ-теста показано, что все матриксы поддерживали адгезию, распластывание, а также рост и пролиферацию всех типов клеток. Установлено, что воздействие низкочастотного переменного магнитного поля (19/53 Гц, 100 мТл, время экспозиции по 1 ч/день в течение 5 дней) на МСК, культивируемых на пленках с МНЧ, модулировало секреторную активность и транскриптомный профиль клеток, что подтверждено результатами иммуноферментного анализа и ПЦР в реальном времени.

Таким образом, пленки и макропористые гидрогели, содержащие МНЧ, могут быть перспективны в качестве магнитоуправляемых матриксов для тканевой инженерии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 22-13-00261). В работе использовано оборудование, купленное, в том числе, по Программе Развития МГУ.

9.12. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ЛИГАНД-РЕЦЕПТОРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ РАКОВЫХ И ИММУННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ КЛЕТОК ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТРАНСКРИПТОМНОГО АНАЛИЗА

Глушак Р.А.¹, Ракитина О.А.¹, Кондратьева С.А.¹, Сухова М.В.², Филоненко Д.А.², Иванюк М.А.², Горбунова М.И.², Алексеенко И.В.¹, Жукова Л.Г.², Дидыч Д.А.¹

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

²Московский клинический научный центр имени А.С. Логинова, Москва
roma272731@mail.ru

Несмотря на прогресс иммунотерапии, направленной на подавление иммуносупрессивных межклеточных взаимодействий (блокада иммунных контрольных точек), ее применение в отношении рака молочной железы (РМЖ) ограничено и лишь недавно было одобрено в комбинации с химиотерапией для тройного негативного подтипа (ТНРМЖ). Поэтому определение механизмов опухолевой иммуносупрессии, а также поиск новых терапевтических мишеней является актуальной задачей при разработке эффективных стратегий в лечении РМЖ. Целью данной работы было на основе полученных нами транскриптомов раковых и иммунных популяций опухолевых клеток пациентов с ТНРМЖ и с агрессивной формой HER2-отрицательного люминального В РМЖ (Люминальный С) определить спектр межклеточных лиганд-рецепторных взаимодействий, участвующих в подавлении противоопухолевого иммунитета и обладающих терапевтическим потенциалом. В результате анализа транскриптомов были определены лиганд-рецепторные пары генов из базы CellTalkDB, активных в раковых (лиганды) и иммунных (рецепторы) популяциях клеток. На основе анализа литературных данных была проведена функциональная аннотация и определены возможные иммуносупрессивные взаимодействия. С учетом известных терапевтических мишеней (Therapeutic Target Database) были определены межклеточные взаимодействия с участием CD274 (PD-L1), SELE, CXCR4, KDR, CSF1R, для которых разработаны препараты, в том числе одобренные для применения в клинической практике. На основе полученных нами результатов в сочетании с опубликованными транскриптомами единичных клеток опухолей РМЖ (PMID:34493872) обнаружены специфичные для люминального С РМЖ потенциальные взаимодействия раковых клеток с миелоидным типом клеток и специфичные для ТНРМЖ взаимодействия раковых клеток и опухоль-ассоциированных фибробластов. В дальнейшем планируется проверить роль найденных взаимодействий с использованием опухолевых моделей.

Исследование выполнено при поддержке гранта Правительства Москвы (проект №0903-2/22).

9.13. ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ НА 3Д КЛЕТОЧНЫХ СФЕРОИДАХ

Гольцварт Е.П.¹, Согомоян А.С.^{1,2}, Котельникова П.А.^{1,2}, Миркасымов А.Б.^{1,3}, Деев С.М.^{1,2,3}

¹Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ", Москва

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

³Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова МЗ РФ (Сеченовский Университет), Москва
ekaterina.goltcvart@yandex.ru

Сфероиды представляют собой трехмерные клеточные культуры (3Д), которые самоагрегируются в сферические образования во время пролиферации клеток. Подобно опухолям, они содержат как поверхностные, так и глубоко скрытые клетки, а также гипоксическое ядро с хорошо окисгенированным внешним слоем клеток. Сфероиды имеют плотную внутреннюю структуру за счет различных видов межклеточных контактов и взаимодействия клеток с внеклеточным матриксом. Поэтому использование сфероидов, имитирующих естественную структуру ткани или новообразования, является перспективной платформой для высокопроизводительных исследований, тестирования лекарственных средств, оценки токсичности, а также для моделирования различных заболеваний.

Для визуализации изучаемых клеточных моделей в реальном времени, а также оценки их жизнеспособности при тестировании различных агентов, применяется метод флуоресцентной микроскопии. Этот метод позволяет детектировать несколько флуоресцентных клеточных линий в сфероиде при воздействии терапевтических препаратов. Применение данного метода помогает лучше понять эффективность и безопасность новых лекарств и различных активных веществ.

В ходе выполнения данной работы были получены опухолевые сфероиды из нескольких типов флуоресцентных клеток с использованием агарозных форм. С помощью детекции флуоресцентных белков в клетках исследовано воздействие терапевтических агентов на смешанных 3Д клеточных сфероидах. Дальнейшая работа направлена на тестирование препаратов на 3Д моделях с использованием гелей, имитирующих межклеточное пространство опухолей и тканей.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 075-15-2024-536 (Онкогераностика и проблемы резистентности к противоопухолевым и антибактериальным препаратам).

9.14. СОЗДАНИЕ КОМПЛЕКСА НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА С ФЛАВИН МОНОНУКЛЕОТИДОМ ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ИНАКТИВАЦИИ БАКТЕРИЙ *E. coli*

Душина А.О.^{1,2,3}, Степанов М.Е.², Аржанов А.И.^{2,4}, Кольченко А.М.²,
Егорова Т.В.², Хайдуков Е.В.^{2,5}, Генералова А.Н.³

¹Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ", Москва

²Московский педагогический государственный университет, Москва

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

⁴Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН - Троицкое обособленное подразделение, Москва

⁵НИЦ "Курчатовский институт", Москва
dushina02@gmail.com

Антимикробная фотодинамическая терапия - перспективный метод, основанный на взаимодействии света, фотосенсибилизатора и кислорода, в результате которого происходит образование активных форм кислорода (АФК), повреждающих клетки бактерий. Этот подход снижает вероятность развития резистентности по сравнению с антибиотиками. Флавин мононуклеотид (ФМН), производное витамина В₂, является эндогенным соединением и демонстрирует привлекательные фотодинамические свойства. Известно, что наночастицы серебра (AgNPs) могут эффективно инактивировать бактерии за счет разрушения клеточной мембраны, ДНК и образования АФК. Перекрытие спектра поглощения AgNPs и спектра флуоресценции ФМН определяет возможность эффективной передачи энергии, что способствует усилению генерации АФК. Антимикробная фотодинамическая терапия с использованием комплекса, сочетающего антибактериальную активность AgNPs и фототоксичность ФМН, может стать эффективным методом лечения бактериальных инфекций. В данной работе с помощью боргидридного метода были синтезированы AgNPs с пиком плазмонного резонанса на длине волны 397 нм. Для повышения коллоидной стабильности в качестве стабилизатора использовали ФМН. Исследование физико-химических свойств AgNPs при добавлении ФМН подтвердило формирование комплекса AgNPs-ФМН. Для анализа эффективности антибактериальной фотодинамической активности комплекса AgNPs-ФМН была оценена выживаемость бактерий *E. coli*. Комплекс AgNPs-ФМН продемонстрировал наиболее высокую фототоксичность по сравнению с образцами, содержащими только AgNPs или ФМН, что показывает большой потенциал данного комплекса для антимикробной фотодинамической терапии.

Работа выполнена в рамках Государственного задания Министерства образования РФ по теме "Лазерные технологии для биомедицинских приложений" (№ 122122600055-2).

9.15. НОВЫЕ АНАЛОГИ ТРОМБИН-СВЯЗЫВАЮЩЕГО АПТАМЕРА С МОДИФИЦИРОВАННЫМ КВАДРУПЛЕКСНЫМ ЯДРОМ

Ермолаева А.Н.^{1,2}, Петрова К.В.^{1,2}, Варижук И.В.¹, Тимофеев Э.Н.¹

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

²МИРЭА - Российский технологический университет, Москва

Ermyza03@mail.ru

ДНК-аптамеры - олигонуклеотидные молекулы, способные за счет уникальной пространственной структуры специфически связываться с молекулами-мишенями. Аптамеры, содержащие в своей структуре G-квадруплексы, представляют собой отдельную группу этих высокоаффинных лигандов и являются важными как исследовательскими, так и терапевтическими инструментами. Модификации, вводимые в структуру ДНК-аптамеров, как правило, призваны увеличить их термодинамическую стабильность, аффинность к мишени и устойчивость к биодegradации. Однако, введение модификаций, затрагивающих квадруплексное ядро, состоящее из состыкованных в стопки G-тетрад, остается непростой задачей, поскольку зачастую приводит к потере аптамером аффинности.

В рамках исследований, представленных в данной работе, нами разработана, получена и исследована серия новых аналогов тромбин-связывающего аптамера (ТСА), содержащих модифицированные трех- и четырехслойные квадруплексы. Полученные структуры продемонстрировали высокую термодинамическую стабильность, при этом сохранили антикоагулянтную активность и аффинность к тромбину. В полученных аптамерах одна или две G-тетрады в определенных позициях содержали дезоксигуанозин с альфа-ориентацией гликозидной связи. Использование подобной модификации позволило контролировать топологию образующихся квадруплексов и ощутимо повысить их термодинамическую стабильность. Присутствие G-тетрад не природного типа вызывало некоторое снижение антикоагулянтной активности по сравнению с немодифицированными аналогами. Однако, этот эффект удалось полностью компенсировать за счет конъюгации аптамеров с предварительно оптимизированными трипептидными последовательностями, которые обеспечивали дополнительное взаимодействие с аминокислотными остатками тромбина вблизи основного сайта связывания.

9.16. ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ БЕЛКОВ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ ОСТРОВКОВ ЛАНГЕРГАНСА *in vitro*

Жарова П.М.¹, Ермакова П.С.¹, Васильчикова Е.А.¹, Батенькин М.А.², Чесноков С.А.², Загайнова Е.В.^{1,3}, Кашина А.В.^{1,3}

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород

²Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, Нижний Новгород

³ФНКЦ физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина ФМБА России, Москва
zharovapolina5@gmail.com

Сахарный диабет 1 типа - аутоиммунное заболевание, вызывающее разрушение β -клеток островков Лангерганса (ОЛ). Перспективным методом лечения является трансплантация инкапсулированных ОЛ, но их функциональность ограничена из-за повреждений при выделении и недостаточного взаимодействия с внеклеточным матриксом. Цель исследования - улучшить эффективность трансплантации, инкапсулируя островки в альгинатные микрокапсулы, модифицированные элементами внеклеточного матрикса (ВКМ).

ОЛ получены из поджелудочных желез крыс пород Wistar. Принадлежность выделенных клеток к ОЛ подтверждали окрашиванием дитизеном. ОЛ культивировали в питательной среде и растворах коллагена I или III. Далее ОЛ инкапсулировали с использованием микрофлюидного метода, на специализированной установке (ИМХ имени Г.А. Разуваева РАН). Часть микрокапсул осталась без изменений, а часть была модифицирована коллагеном I или III. Жизнеспособность оценивалась с использованием окрашивания пропидий йодидом и кальцеином. Функциональная активность оценивалась с использованием ИФА на инсулин.

При культивировании ОЛ без коллагенов жизнеспособность сохранялась выше 95%, а значения инсулина на первые сутки соответствовали 103 пг/мл. Культивирование ОЛ с коллагеном I положительно повлияло на жизнеспособность клеток, а также на секрецию инсулина (120 пг/мл). При этом совместное культивирование ОЛ с коллагеном III не показало улучшения как жизнеспособности, так и синтеза инсулина (100 пг/мл). У всех инкапсулированных ОЛ наблюдали высокую жизнеспособность выше 95%. После инкапсуляции ОЛ синтез инсулина составил до 110 пг/мл в капсулах без коллагенов. Более того, значения инсулина повышаются у ОЛ инкапсулированных в микрокапсулы с коллагеном I (123 пг/мл). У ОЛ инкапсулированных в микрокапсулы с коллагеном III синтез инсулина уменьшался (87 пг/мл).

Таким образом, добавление коллагена I, как элемента ВКМ, в микрокапсулы демонстрирует многообещающие результаты для улучшения функциональных характеристик ОЛ.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда №24-65-00044.

9.17. ПРОИЗВОДНЫЕ СУКЦИНИМИДОВ КАК ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ рН-СЕНСОРЫ

Жихрева А.В.^{1,2}, Чупахин Е.Г.¹

¹Балтийский федеральный институт имени Иммануила Канта - Высшая школа живых систем, Калининград

²Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва
anastasiashikhreva@gmail.com

Известно, что внутриклеточный рН может варьироваться от 4,5 до 8 в разных органеллах и играть важную роль в клеточном поведении и патологических состояниях. Мониторинг изменений внутриклеточного рН имеет одно из решающих значений для понимания метаболизма клеток и развития патофизиологических процессов. Отслеживать кислотность можно с помощью различных флуоресцентных соединений, которые чувствительны к рН и способны обратимо изменять флуоресцентные свойства при динамическом изменении кислотности среды. Сенсорные молекулы обычно имеют особую структуру, которая позволяет им образовывать внутримолекулярные связи или претерпевать конформационные изменения в условиях изменения рН. Это приводит к изменению интенсивности или длины волны флуоресцентного излучения.

В работе были получены различные индолизины и бензилиден-сукцинимиды, исследованы их фотофизические свойства, которые доказали, что синтезированные продукты обладают флуоресценцией. Протонируя и депротонируя чувствительные к рН группы можно вызывать изменения их электронных характеристик, и как следствие, изменять сдвиги длин волны спектра эмиссии. В нашей прошлой работе мы подвергали полученные индолизины гидролизу для раскрытия сукцинимидного кольца и получения свободной карбоксильной группы. В настоящей работе нитрогруппу в составе соединений подвергали восстановлению до аминогруппы. Для оценки способности окрашивания клеток была выбрана клеточная линия A549 - эпителиальные клетки аденокарциномы легких. Измерения проводились при рН, равных 5,5, 6,8 и 8,8. Клетки инкубировали с восстановленными индолизинами и бензилиден-сукцинимидами в течении 15 минут при 37°C. По полученным результатам видно, что наивысшая интенсивность наблюдалась в щелочной среде (рН= 8,8), в то время как в кислой среде наблюдалась наименьшая интенсивность флуоресценции. Это можно объяснить тем, что в кислой среде аминогруппа в составе этих соединения протонируется, что делает ее электронакцептором и, как следствие, уменьшает интенсивность флуоресценции. Возможно, можно увеличить интенсивность при более длительном инкубировании.

Таким образом, полученные соединения обладают высоким потенциалом для использования в области конфокальной флуоресцентной микроскопии, как внутриклеточные рН-сенсоры.

9.18. ПРИМЕНЕНИЕ ПЦР-РВ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ РЕАКТИВАЦИИ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИ РЕПРЕССИРОВАННОГО ГЕНА *ZsGreen1* В ТЕСТ-СИСТЕМЕ НА ОСНОВЕ КЛЕТОК A549 TI, MDA-MB-231 TI, HCT116 TI

Зимин К.А.^{1,2}, Максимова В.П.², Лылова Е.С.², Кирсанов К.И.^{2,3},
Якубовская М.Г.²

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва

²Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина, Москва

³Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, Москва
ka-zimin@yandex.ru

Введение. Большинство тестов для оценки канцерогенного потенциала химических соединений направлены, как правило, на выявление генотоксичности. В 2022 году для скрининга эпигенетической активности ксенобиотиков *in vitro* была разработана тест-система на основе клеток различного гистогенеза A549 TI, MDA-MB-231 TI, HCT116 TI, содержащих в геноме эпигенетически репрессированный ген флуоресцентного белка *ZsGreen* и отвечающих на действие ингибитора гистоновых деацетилаз трихостатина А (TSA) усилением флуоресценции. Целью данного исследования является валидация метода ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) для детекции реактивации экспрессии эпигенетически репрессированного гена *ZsGreen1* при действии TSA.

Материалы и методы. Клетки A549 TI, MDA-MB-231 TI, HCT116 TI инкубировали с TSA (100 и 200 нМ) в течение 4 и 24 часов, после чего проводили фенол-хлороформную экстракцию РНК, обработку ДНКазой и обратную транскрипцию. Реактивацию экспрессии *ZsGreen1* анализировали с помощью ПЦР-РВ. Праймеры к репортерному гену *ZsGreen1* подбирали с использованием Primer Blast. Эффективность праймеров оценивали с помощью ПЦР-РВ, где в качестве матрицы использовали разведения тотальной кДНК. Специфичность праймеров оценивали с помощью электрофореза продуктов ПЦР в 2% агарозном геле (2 В/см).

Результаты. Были подобраны праймеры к гену *ZsGreen1*. ПЦР протекает с высокой эффективностью (90-110%) и не дает побочного продукта; основной продукт имеет длину 224 п.н. При инкубации в течение 24 часов со 100 нМ TSA мы наблюдали повышение экспрессии *ZsGreen1* более чем в 8,7 раз для A549 TI, 2,7 раз для MDA-MB-231 TI и 150 раз для HCT116 TI. Эффект 200 нМ TSA по сравнению с 100 нМ при инкубации в течение 24 часов был в среднем в 4,7 раза сильнее для всех популяций. При инкубации в течение 4 часов наблюдали рост экспрессии *ZsGreen1* в 2,2-8,8 раз и в 1,7-14,9 раз для всех клеток при обработке 100 нМ и 200 нМ TSA, соответственно.

Заключение. Время- и дозозависимое действие TSA на экспрессию гена *ZsGreen1* демонстрирует возможность использование ПЦР-РВ в качестве метода для детекции эпигенетической активности соединений в тест-системе.

9.19. СИНТЕЗ И ХАРАКТЕРИСТИКА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СПЕКТРА НАНОФОРМУЛЯЦИЙ ДЛЯ ДОСТАВКИ В ТКАНИ МИОКАРДА

Зорохович Д.А., Комедчикова Е.Н., Юрченко М.А., Колесникова О.А., Шипунова В.О.

Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный
dar.zoro@yandex.ru

Социально значимые заболевания, такие как инфаркт миокарда и ишемическая болезнь сердца, продолжают оставаться одной из основных причин смертности населения. Их лечение затруднено нехваткой безопасных и эффективных методов доставки препаратов в чувствительную ткань миокарда. Сложность разработки систем доставки связана с активностью мононуклеарной фагоцитарной системы (МФС). Она выполняет защитную функцию, устраняя из кровотока экзогенные вещества, включая наноматериалы, что значительно ограничивает их терапевтическое действие. Для преодоления этого барьера была предложена технология МФС-цитоблокады, позволяющая временно подавлять активность макрофагов и других клеток системы. Это даёт возможность наноагентам дольше циркулировать в организме, увеличивая вероятность их накопления в поражённой ткани миокарда и тем самым повышая эффективность лечения. Измерение интенсивности флуоресценции наночастиц в тканях организма широко применяется для исследования биораспределения и оценки эффективности их доставки.

Была разработана библиотека наночастиц для создания системы направленной доставки диагностических и терапевтических соединений в сердце с помощью МФС-цитоблокады. В рамках данной работы исследовали их физико-химические характеристики, в частности, оптические свойства, а также изучали накопление данных структур в органах без и с МФС-цитоблокадой. В качестве диагностического красителя использовали цианиновый краситель $Cy5$, обладающий высоким уровнем биосовместимости и способностью проникать в биоткани. Спектры возбуждения, эмиссии и поглощения образцов измеряли с помощью флуоресцентного спектрофотометра, а эффективность накопления в органах животных регистрировали методом прижизненного биоимиджинга с целью выявления оптимальных наноструктур как носителей терапевтических препаратов для терапии последствий инфаркта миокарда.

Дальнейшие исследования будут направлены на оптимизацию условий получения и модификации наноагентов для максимальной эффективности доставки в ткани миокарда в сочетании с технологией МФС-цитоблокады.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ № 24-14-00120.

9.20. МАКРОПОРИСТЫЕ ГИДРОГЕЛИ НА ОСНОВЕ ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА, СОДЕРЖАЩИЕ ПОЛИПИРРОЛ, ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Иванова А.Д.^{1,2}, Гладких Д.А.^{1,2}, Дроздова М.Г.², Артюхов А.А.^{1,3},
Марквичева Е.А.²

¹Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва

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

³Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва

ivanova.add@mail.ru

Обладающий электропроводностью полипиррол (ПП) представляет интерес для разработки матриц, которые можно использовать для тканевой инженерии проводящих тканей. Однако ПП гидрофобен, нерастворим в воде и органических растворителях и отличается хрупкостью, что препятствует созданию трехмерных матриц на его основе. Для преодоления этих недостатков ПП можно предложить композитные материалы на основе ПП и поливинилового спирта (ПВС), который, в отличие от ПП, обладает хорошими механическими свойствами. Преимуществом ПП перед ПВС является его способность обеспечивать адгезию клеток.

Целью данной работы было получение композитных макропористых ПВС-ПП гидрогелей, изучение их физико-химических свойств, а также биосовместимости в модели *in vitro*.

Макропористые ПВС-ПП гидрогели получали в две стадии. Сначала в результате окислительной полимеризации пиррола в растворе ПВС получали стабилизированные дисперсии ПП. Полученные дисперсии замораживали, после чего высушивали сублимационно. Для фиксации структуры полученных таким образом криоструктуратов их прогревали (100°C, 60-120 мин) для обеспечения межмолекулярной ковалентной сшивки ПВС. Было показано, что физико-химические свойства гидрогелей зависели от содержания ПП и времени термической сшивки. Набухаемость ПВС-ПП гидрогелей снижалась с увеличением содержания ПП и времени прогрева. Увеличение времени прогрева приводило к увеличению угла смачивания и модуля Юнга. Цитотоксичность ПВС-ПП гидрогелей изучали методом тестирования экстрактов, полученных после инкубации матриц в течение 24 ч в среде культивирования DMEM и последующей инкубации в них мышинных фибробластов L929 в течение 24 ч. Было показано, что все образцы гидрогелей не цитотоксичны. Кроме того, клетки линии НОС (остеосаркома человека) культивировали в гидрогелях в течение 7 дней. Количественно рост клеток оценивали с помощью МТТ-теста. Морфологию и распластывание клеток изучали с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии. Было установлено, что содержание ПП и время нагрева гидрогелей ПВС-ПП влияло на морфологию, рост и пролиферацию клеток. Оптимальным для роста и распластывания клеток линии НОС оказался гидрогель с содержанием ПП 10 масс. % и временем прогрева 90 мин.

9.21. HAND2 КАК ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ МИШЕНЬ ТЕРАПИИ ГЛИОБЛАСТОМЫ

Иванова Е.И., Мазур Д.В., Антипова Н.В.

ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
ivanovaekaterina0089@gmail.com

Рак является ведущей причиной низкой продолжительности жизни и смертности во всём мире. Большое значение имеют опухоли нервной системы. Одной из общих черт нейрогенных опухолей являются нарушение транскрипционной активности и высокая экспрессия определённых онкогенов. Показано, что при нейробластоме повышена экспрессия транскрипционного фактора HAND2, который может являться потенциальной мишенью терапии данной опухоли. Также известно, что HAND2 модулирует дифференцировку и миграцию клеток при нейробластоме. Однако роль HAND2 в глиобластоме практически не изучена. Данная работа направлена на изучение уровней экспрессии HAND2 в различных клеточных линиях и первичных культурах глиобластомы. Результаты помогут сделать вывод об актуальности дальнейшего изучения регулятора транскрипции HAND2 как терапевтической мишени для глиобластомы.

Для решения поставленной задачи использовали клеточные линии U87MG, T98G, U251MG, U373MG и первичные культуры клеток глиобластомы, полученные от пациентов. Анализ уровней мРНК интересующего гена проводили с помощью обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени, также использовали данные транскриптомного анализа.

По результатам проведённых экспериментов было показано, что HAND2 дифференциально экспрессирован в первичных культурах и клеточных линиях глиобластомы. Его экспрессия наблюдается в некоторых первичных культурах, таких как 020, 022, 067, 1079, однако в других первичных культурах ген экспрессируется на достаточно низком уровне. Можно сказать, что в сравнении с другими клеточными культурами, 020 сверхэкспрессирована по HAND2 в связи с этим рассматривается возможность его нокдауна для изучения. В остальных клеточных культурах предполагается создать систему для сверхэкспрессии HAND2 и рассмотреть его влияние на пролиферацию, миграцию и устойчивость к химиотерапии. В клеточной линии U87, U373 и T98G экспрессия HAND2 практически не наблюдалась, напротив в линии U251 экспрессия данного гена была детектирована на невысоком уровне. Данный транскрипционный фактор рассматривается нами как возможная мишень для глиобластомы.

Работа выполнена в рамках проекта РФФ № 24-15-00097.

9.22. ИЗМЕНЕНИЯ ЦИРКАДИАННОЙ ДИНАМИКИ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ ПРЕНАТАЛЬНО ГИПОКСИРОВАННЫХ САМОК КРЫС ПРИВОДЯТ К НАРУШЕНИЯМ В ГЛЮКОКОРТИКОИДНОЙ СИСТЕМЕ ИХ ПОТОМСТВА

Исаков И.Э.¹, Потапова С.С.², Стратилев В.А.², Ветровой О.В.²

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

²Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург
isuramavo@gmail.com

Большое количество широко распространённых психических и психиатрических заболеваний связаны с нарушениями пренатального развития, вызываемыми различными факторами, одним из которых является пренатальная гипоксия. В предыдущих исследованиях мы показали роль пренатальной гипоксии в нарушении функционирования глюкокортикоидной нейроэндокринной системы. Нами было выдвинуто предположение, что изменения циркадианной динамики глюкокортикоидов в крови самок, переживших пренатальную гипоксию, могут оказывать негативное влияние на развитие потомства во время беременности, приводя во втором поколении к нарушениям в поведении, сходным с материнскими.

Работа проведена на крысах линии Вистар. Для моделирования пренатальной гипоксии самок крыс на 14-16 сутки беременности подвергали тяжелой гипобарической гипоксии (3 сеанса по 3 ч при 180 мм.рт.ст. с интервалами между сеансами 24 ч). Далее к контрольным и пренатально гипоксированным самкам в возрасте 3 месяцев подсаживали здоровых половозрелых контрольных самцов, а дальнейшие исследования осуществляли на их потомстве - самцах (контроль и потомки пренатально гипоксированных самок (ППГ)) в возрасте 3 месяцев.

Методом Вестерн блот мы показали значительное увеличение уровня адренокортикотропного гормона (АКТГ) и его предшественника, проопиомеланокортина, в гипофизе, а также снижение содержания глюкокортикоидных рецепторов в медиальной префронтальной коре и гиппокампе. Усиленный синтез АКТГ приводит к повышению уровня кортикостерона в надпочечниках, плазме крови и гиппокампе ППГ крыс. Кроме того, на фоне гиперпродукции кортикостерона в прилежащем ядре ППГ крыс снижено содержание тирозингидроксилазы, фермента, катализирующего лимитирующую стадию синтеза катехоламинов, и фосфорилированного белка DARPP-32 по сравнению с контролем.

Таким образом, последствия пренатальной гипоксии проявляются в серьезных нарушениях функционирования глюкокортикоидной нейроэндокринной системы даже во втором поколении, сопровождаясь тревожным и депрессивным поведением.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (соглашение № 075-15-2020-921 от 13.11.2020).

9.23. РАЗРАБОТКА ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ НАПРАВЛЕННОГО СКРИНИНГА КОМБИНАТОРНЫХ БИБЛИОТЕК АНТИМИКРОБНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПЕПТИДНОЙ ПРИРОДЫ

Калганова А.И.¹, Пипия С.О.¹, Смирнов И.В.^{1,2}, Терехов С.С.¹

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

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

kalganovanas@ibch.ru

Бактериальные инфекции остаются одной из главных угроз общественного здравоохранения, особенно в условиях нарастающей антибиотикорезистентности. Процесс открытия и оптимизации новых пептидных соединений требует значительных ресурсов и времени, что ограничивает скорость внедрения новых терапевтических молекул. В связи с чем необходимо разработать платформу, сочетающую в себе получение комбинаторных библиотек соединений и систему таргетного отбора активных молекул. Текущая работа сосредоточена на разработке скрининг-платформы для поиска соединений активных в отношении значимых ESKAPE-патогенов, особое внимание уделяется *Klebsiella pneumoniae*. Рассматриваемые соединения представляют собой отдельные варианты из комбинаторной библиотеки ДНК-кодируемых антимикробных веществ. При большой представленности вариантов в библиотеках возникает потребность в создании технологии для анализа широкой выборки искусственных репертуаров. Микрофлюидная генерация эмульсии позволяет обеспечить мягкие условия инкапсуляции, что делает ее оптимальной для живых клеток в контролируемых условиях генерации. Суть метода заключается в коинкапсуляции отдельных вариантов продуцентов модифицированных пептидов с патогеном - мишенью в каплях биосовместимой эмульсии, их последующем кокультивировании в каплях и отборе активных молекул-кандидатов. Далее следует получение из активных отобранных продуцентов последовательности пептида. Платформа обеспечила получение нескольких пептидных молекул-кандидатов, с ярко выраженной антимикробной активностью в отношении грамотрицательных микроорганизмов. Дальнейшие отборы позволят сформировать базу данных для проведения системного анализа.

Исследование выполнено при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2024-536.

9.24. СОЗДАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО БИОСЕНСОРА И ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ В ЗАДАЧЕ ИДЕНТИФИКАЦИИ НОВЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ И АНТИБИОТИКОВ

Кашаев Г.А., Калганова А.И., Терехов С.С.

ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
gr.kashaev@gmail.com

Одним из путей решения проблемы антибиотикорезистентности является создание новых систем разработки антибиотических препаратов, обеспечивающих параллельный анализ большого количество соединений. Создание искусственного разнообразия конкретного АМП в рамках дрожжевой клеточной комбинаторной библиотеки позволит анализировать до 10⁶ вариантов одновременно. В работе исследуется сокультивирование дрожжевых клеток, продуцирующих различные варианты АМП, и бактериального биосенсора. В ходе жизнедеятельности бактерии реализуют факторы патогенности, которые при определенных условиях становятся фатальными для дрожжевых клеток. Таким образом, выживают только дрожжи, вырабатывающие наиболее активные варианты АМП. Под подбором условий сокультивирования подразумевается подбор питательной среды, режима аэрации, соотношения стартовых концентраций, длительность культивирования, температура, наличие компонентов, компрометирующих целостность дрожжевых клеток и др. В качестве клеток-продуцентов были использованы клетки *Pichia pastoris* GS115, конститутивно продуцирующие RFP-белок mCherry или АМП, а также клетки одновременно нарабатывающие и флуоресцентный белок, и АМП. В данной работе были подобраны штаммы ESKAPE-патогенов, таких как *Klebsiella pneumoniae*. Данные штаммы были трансформированы конструкцией с конститутивно экспрессирующимся белком sfGFP для установления изменения соотношения количества бактериальных клеток и клеток-продуцента методом проточной цитофлуориметрии. Еще один метод, благодаря которому фиксировали падение КоЕ, заключается в высеве методом расстривок суспензии клеток на селективные питательные среды отдельно для дрожжей и отдельно для бактерий. Данный метод позволяет наиболее точно установить падение титра клеток. В результате были подобраны оптимальные условия сокультивирования дрожжевых клеток-продуцентов АМП с бактериальным биосенсором, обеспечивающие формирование условий витальной селекции.

Исследование выполнено при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2024-536.

9.25. РАЗРАБОТКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ПОКРЫТИЯ ДЛЯ ХИРУРГИЧЕСКИХ СИСТЕМ ДРЕНАЖА

Китайцев А.А.¹, Простякова А.И.²

¹Национальный исследовательский ядерный институт "МИФИ", Москва

²ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М.

Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

tonykit91@yandex.ru

В медицине часто используют дренажные системы в случае проведения операционного вмешательства в организм. В связи с длительным восстановительным периодом даже при условии изначальной стерильности системы зачастую наблюдается развитие вторичной инфекции. На данный момент эта проблема решается просто: трубки меняются с частой регулярностью, чтобы не допустить заражения.

Цель работы - разработка способа модификации поверхности дренажной ПВХ трубки для снижения риска бактериальной инфекции. Решением может стать функциональное покрытие с антибактериальным лекарственным средством, обеспечивающее равномерный релиз и биосовместимость.

Изучение кинетики высвобождения ЛС из разрабатываемого покрытия было проведено на модельном препарате - антибиотике Амикацин. Первоочередной задачей была разработка спектрофотометрической экспресс-методики определения Амикацина. Решение поставленной задачи заключалось в проведении модификации молекулы Амикацина. Чтобы провести колориметрический анализ амикацина, необходимо провести его дериватизацию - в данной работе для этого было выбрано вещество ванилин, так как оно растворимо в воде также, как и антибиотик. В результате их взаимодействия образуется основание Шиффа, хромофорная группа.

Вторая ключевая задача - разработка системы доставки антибиотика с учетом требований к необходимости формирования антибактериальной поверхности. Для изготовления покрытия был выбран силан-силоксановый полимер, который препятствует бактериальному образованию за счёт отсутствия биодegradации. Модификация поверхности дренажной трубки заключалась в нанесении композиции из нескольких типов силан-силоксановых полимеров: MQ-винильная смола и гидрид-терминированный полидиметилсилоксан. Антибиотик добавляли в композицию до начала сшивки полимера, что позволяло включить его в трехмерную структуру.

Исследование показало равномерный выход ЛС из покрытия в течение месяца в модельной среде, что делает его перспективным для снижения частоты бактериальных осложнений в послеоперационном периоде.

9.26. ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ БИОИМИДЖИНГ ПЕЧЕНИ ПРИ РЕГЕНЕРАЦИИ НА ФОНЕ ОСТРОГО ПЕЧЁНОЧНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

Козлова В.А.^{1,2}, Родимова С.А.¹, Бобров Н.В.³, Щечкин И.Д.^{1,2}, Козлов Д.С.^{1,5}, Кузьмин Д.А.^{1,2}, Карабут М.М.¹, Загайнова Е.В.^{1,4}, Кузнецова Д.С.^{1,5}

¹Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава РФ - НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий, Нижний Новгород

²ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

³Приволжский окружной медицинский центр ФМБА России, Нижний Новгород

⁴ФНКЦ физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина ФМБА России, Москва

⁵Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва

Kozlova.Vera2002@yandex.ru

Печень обладает высоким регенераторным потенциалом, который значительно снижается при наличии патологии, что резко увеличивает риски развития печеночной недостаточности. Для изучения механизмов, ответственных за нарушение восстановительной способности печени может служить модель индуцированного острого печеночного повреждения (ОПП). Одним из чувствительных маркеров степени регенераторного потенциала печени является энергетический метаболизм гепатоцитов, который можно оценивать с применением современных бесконтрастных методов мультифотонной микроскопии и FLIM (fluorescence lifetime imaging microscopy).

Эксперименты проводили на самцах крыс линии Wistar. Индукцию ОПП путем внутривенной инъекции парацетамола в концентрации 1 г/кг веса животного. Через 24 часа после индукции ОПП проводилась индукция регенерации путем 30% и 70% гепатэктомии. Мониторинг изменений проводили на 3 и 7 день регенерации печени.

В результате, при развитии ОПП с помощью мультифотонной микроскопии выявлены обширные зоны со сниженным сигналом флуоресценции НАДН, ассоциированные с зонами повреждения гепатоцитов. Методом FLIM показано отсутствие резкого увеличения значений вкладов времен жизни флуоресценции связанной формы НАДН (a2,%) и НАДФН (a3,%) на 3 день регенерации. При этом, при регенерации нормальной печени на 3 день происходит резкое увеличение значений a2 и a3.

Были выявлены характерные оптические критерии снижения регенераторного потенциала печени при острой патологии, которые могут быть использованы в клинике.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 23-25-00421.

9.27. РАЗРАБОТКА HER2-СПЕЦИФИЧНЫХ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ НАЦЕЛИВАНИЯ НА pH ОПУХОЛЕВОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ

Колесникова О.А., Леванович В.В., Шипунова В.О.

Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет) - Институт биофизики будущего, Долгопрудный
kolesnikova.aa@mipt.ru

Рецептор эпидермального фактора роста человека 2 (HER2) является мембранной тирозиновой протеинкиназой семейства EGFR/ErbB и принимает участие в запуске различных клеточных программ, в том числе контролирует пролиферацию. Особенностью данного рецептора является тот факт, что он находится в открытой конформации и не нуждается в дополнительной активации, в результате чего повышенная экспрессия данного рецептора зачастую приводит к онкогенезу, при этом HER2-положительные опухоли характеризуются высокой агрессивностью и риском метастазирования, а также устойчивостью к стандартной химиотерапии.

Таким образом, разработка различных лекарственных препаратов для адресного воздействия на HER2-положительные опухоли является одной из наиболее значимых задач биомедицины. Активно развивающимся направлением в области нанотехнологий является онкотераностика, направленная на разработку лекарственных формуляций, одновременно сочетающих в себе терапевтические и диагностические свойства. Проблема тестирования большинства разработанных для онкотераностики наночастиц *in vitro* связана с тем, что они исследуются в буферных системах со стандартными значениями pH, которые характерны для нормальных клеток и тканей. Для опухолевых клеток характерен нормальный внутриклеточный pH и избыточный транспорт ионов, приводящий к закислению внеклеточного pH. В данной работе для нацеливания на pH опухолевого микроокружения были выбраны магнитные наночастицы ввиду их высокой биосовместимости, низкой токсичности и возможности управления с помощью внешнего магнитного поля. Было продемонстрировано, что функционализация поверхности HER2-специфичных магнитных наночастиц с помощью альбумина приводит к эффективному связыванию частиц в диапазоне pH, характерном для опухолевого микроокружения. Более того, полученные наночастицы в 2 раза эффективнее накапливались в опухоли при тестировании *in vivo* в сравнении с контрольными частицами, что было продемонстрировано при проведении магнитно-резонансной томографии. Таким образом, были разработаны магнитные наночастицы для применения в области онкотераностики, которые в дальнейшем могут использоваться как для визуализации и диагностики опухолей, так и для терапии при воздействии внешнего магнитного поля.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России, проект FSMG-2024-0010.

9.28. ОЦЕНКА КИСЛОРОДНОГО СТАТУСА ОПУХОЛЕЙ В МОДЕЛИ *in vivo* ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ТАРГЕТНОЙ АНТИ-VEGF ТЕРАПИИ

Комарова А.Д.^{1,2}, Дружкова И.Н.¹, Критченков И.С.³, Туник С.П.³,
Щеславский В.И.¹, Ширманова М.В.¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород

²Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

³Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
komarova.anastasii@gmail.com

Целью работы являлось исследование кислородного статуса опухолей *in vivo* методом PLIM-микроскопии при анти-VEGF терапии.

Актуальной задачей является синтез новых фосфоресцентных сенсоров молекулярного кислорода, применяемых для прижизненной визуализации кислородного статуса опухолей *in vivo* методом PLIM-микроскопии.

Биологическое тестирование новых PLIM (Phosphorescence lifetime imaging) сенсоров проводили на клетках линии колоректального рака мыши СТ26, цитотоксичность оценивали методом МТТ-теста, динамику накопления и субклеточное распределение - методом лазерной сканирующей микроскопии. *In vivo* исследования были выполнены на опухолях СТ26, привитых мышам линии Balb/c (n=10). Анти-VEGF терапию препаратом Авастин (10 мк/кг) осуществляли с 7 по 12 дни роста опухоли ежедневно. Оценку кислородного статуса методом PLIM-микроскопии проводили на 12-й день на лазерном сканирующем микроскопе LSM 880 (ex. 750 нм, em. 600-690 нм).

Были протестированы новые фосфоресцентные сенсоры на основе иридия ISK7, ISK8 и ISK9, предоставленные научной группой профессора С.П. Туника (СПбГУ). Исследуемые сенсоры не проявляют цитотоксичность, сенсор ISK9 проникает в живые опухолевые клетки и локализуется в цитоплазме. Был разработан протокол визуализации сенсора ISK9 методом PLIM *in vivo*. Разработанный протокол был применен для оценки кислородного статуса опухолей при естественном росте и при проведении таргетной анти-VEGF терапии. В группе контрольных опухолей время жизни фосфоресценции составило 7.1 ± 0.6 мкс, в группе леченых - 8.4 ± 0.5 мкс ($p=0.001$), что свидетельствует об увеличении уровня гипоксии в опухолях после проведения лечения. Полученные данные были верифицированы методом иммуногистохимии с окраской пимонидазолом.

Выводы. Таким образом, в результате исследования впервые показана возможность оценки кислородного статуса опухолей *in vivo* с помощью нового фосфоресцентного сенсора кислорода и продемонстрированы изменения кислородного статуса на фоне терапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 23-15-00294).

9.29. ИЗУЧЕНИЕ БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ НАНОАГЕНТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПОСОБА ИХ ВВЕДЕНИЯ В ОРГАНИЗМ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЛИНИЙ МЫШЕЙ

Комедчикова Е.Н., Колесникова О.А., Обозина А.С., Шипунова В.О.

Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет) - Институт биофизики будущего,
Долгопрудный
elena.komedchikova@gmail.com

При исследовании препаратов на основе наночастиц эксперименты на мышах являются важным и необходимым этапом для оценки их эффективности и токсичности. В зависимости от особенностей рассматриваемой модели заболевания могут использоваться как иммунокомпетентные (BALB/c и др.), так и мыши с ослабленной иммунной системой (Nude, SCID и др.). Как известно, одной из ключевых проблем, ограничивающих эффективность применения наночастиц, является их быстрое выведение из кровотока клетками мононуклеарной фагоцитарной системы. Это приводит к недостаточной доставке наночастиц к целевым органам и снижает их терапевтический эффект. У мышей с модифицированной иммунной системой изменена морфология некоторых органов, например, селезёнки, что может оказать существенное влияние на биораспределение наночастиц. Кроме того, путь введения наночастиц оказывает существенное влияние на их накопление в различных органах. Например, инъекция в вену обеспечивает более быстрое и прямое попадание наночастиц в кровоток, в то время как при внутрибрюшинной инъекции наночастицы в первую очередь могут накапливаться в органах брюшной полости.

Целью данного исследования являлось исследование и сравнение биораспределения наночастиц на основе поли-лактид-ко-гликолида с загруженным флуоресцентным красителем в иммунокомпетентных и иммунодефицитных мышах с аллогraftными и ксенографтными опухолями. Было изучено, как иммунный статус мышей влияет на биораспределение наноагентов, в частности, проведено сравнение эффективности доставки наноагентов в опухоль. Было показано, что как иммунный статус мышей, так и способ введения наноагентов оказывает существенное влияние на процент накопления наноагентов в области опухоли, что должно приниматься во внимание при тестировании разрабатываемых препаратов для диагностики и терапии онкозаболеваний.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ № 22-73-10141.

9.30. ОЦЕНКА НАПРЯЖЕННОСТИ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА К ВОЗБУДИТЕЛЮ ГЕПАТИТА В У ДОНОРОВ КРОВИ И ЕЕ КОМПОНЕНТОВ

Коновалова Е.А., Калинина Е.Н., Росина Е.В., Зиганшина С.Е., Кормщикова Е.С.

Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России, Киров
konovalovaea@niigpk.ru

Для иммунопрофилактики вирусного гепатита В применяется специфический иммуноглобулин. Для его производства используется гипериммунная плазма вакцинированных доноров. Согласно Приказу Минздрава России от 21.11.2022 г. № 750н, к донации гипериммунной плазмы допускаются лица, в сыворотке крови которых концентрация антител к поверхностному антигену вируса гепатита В (HBsAg) составляет не менее 7 МЕ/мл (7000 мМЕ/мл). В связи с этим необходим скрининг иммунизированных доноров.

Цель. Оценить напряженность поствакцинального иммунитета к возбудителю гепатита В у доноров крови и ее компонентов.

Материалы и методы. Провакцинировано 27 доноров (14 мужчин и 13 женщин), содержание антител к HBsAg в сыворотке крови которых было ниже протективного уровня 10 мМЕ/мл. Медиана возраста составила 38 лет (18 - 52). Иммунизацию проводили одной разовой дозой (1,0 мл, 20 мкг HBsAg) вакцины против гепатита В рекомбинантной дрожжевой (ЗАО НПК "Комбиотех", Россия). Содержание антител к HBsAg оценивали методом иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов "ВектоHBsAg-антитела" (АО "ВЕКТОР-БЕСТ", Россия) в среднем через 6 недель после вакцинации (от 4 до 8 недель). Статистическую обработку данных выполняли в программе Microsoft Office Excel (Microsoft Corporation, США). Рассчитывали медиану, максимальное и минимальное значения определяемого показателя. Выборки сравнивали с применением критерия Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Медиана содержания антител к HBsAg в сыворотке крови до вакцинации составила 1,85 (0,01 - 8,15) мМЕ/мл, после вакцинации - 322,65 (5,29 - 1442,89) мМЕ/мл. У трех (11%) доноров не наблюдался ответ на вакцинацию. Несмотря на то, что у большинства доноров (89%) после однократной иммунизации антитела выработались в количестве выше протективного уровня и отмечено повышение их концентрации в 174 раза, на момент исследования значение показателя 7000 мМЕ/мл не достигнуто. Целесообразны исследования динамики развития поствакцинального иммунитета для отбора гипериммунной плазмы и вакцинация доноров с уровнем антител больше протективного уровня.

9.31. ИЗУЧЕНИЕ ВАКЦИННЫХ КАНДИДАТОВ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА ЭНТЕРОКОККА С ВКЛЮЧЕНИЕМ ГЕНА S БЕЛКА КОРОНАВИРУСА SARS-CoV-2 И ГЕНА НА ВИРУСА ГРИППА

Коптева О.С., Дешева Ю.А., Гупалова Т.В., Бормотова Е.А., Леонтьева Г.Ф., Суворов А.Н.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург
olga.s.kopteva@yandex.ru

В отделе молекулярной микробиологии ФГБНУ "ИЭМ" были созданы два вакцинных кандидата, прототипы живых мукозальных вакцин против вируса гриппа А и коронавируса SARS-CoV-2. Фрагменты ДНК, кодирующие нейраминидазу (NA) вируса гриппа и шиповидного (S) белка вируса SARS-CoV-2 (Suvorov, A. et al. 2023), были внедрены в ген белка пилей пробиотического штамма *Enterococcus faecium* L3. Для этого был применён разработанный ранее способ, который позволяет включать фрагменты ДНК патогенных микроорганизмов в ген *E. faecium* L3 (Gupalova, T. et al. 2019).

Оценку синтеза мРНК после интеграции фрагментов вирусных генов NA и S в бактериальный геном проводили с помощью количественной ОТ-ПЦР. Для анализа мРНК образцы бактериальных культур отбирали на логарифмической фазе роста, когда оптическая плотность при 600 нм достигала значения 0,8-0,9, что соответствовало $3-5 \times 10^8$ КОЕ/мл бактерий. Для доказательства экспрессии целевых NA и S вирусных белков на поверхности *E. faecium* L3, модифицированные штаммы инкубировали с поликлональными сыворотками человека в качестве источника первичных антител к ним, затем обрабатывали вторичными антителами к IgG человека, конъюгированными с частицами золота размером 18 нм (Jackson ImmunoResearch).

Было показано увеличение амплификации целевых последовательностей относительно контроля - немодифицированного штамма L3: в культуре *E. faecium* L3, модифицированной NA, увеличение было в 2,5-3 раза, а модифицированной S белком - в 14 раз. Это подтверждает, что ДНК-последовательности NA и S в геноме *E. faecium* L3 транскрибируются вместе с геном-мишенью в геноме *E. faecium* L3. Результаты иммуноэлектронной микроскопии показали, что антитела, конъюгированные с золотом, распределяются по всей длине пилей генетически-модифицированных штаммов L3-NA и L3-SARS. При обработке интактного L3 таким же образом наблюдалось хаотичное расположение отдельно лежащих частиц золота.

Данные ПЦР-анализа и иммуноэлектронной микроскопии позволяют сделать вывод, что фрагменты генов NA вируса гриппа и S белка SARS-CoV-2, интегрированные в структуру генов пилей *E. faecium* L3, способны обеспечить синтез белков NA и S и их экспрессию в области пилей пробиотических бактерий.

Исследование профинансировано Министерством науки и высшего образования РФ № 075-15-2022-302 (20.04.2022).

9.32. МОДИФИКАЦИЯ НАНОЧАСТИЦ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕМБРАН РАКОВЫХ КЛЕТОК

Короткова Н.А.¹, Котельникова П.А.^{1,2}, Деев С.М.^{1,3}

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

²Физический институт имени П.Н. Лебедева РАН, Москва

³НИЦ "Курчатовский институт", Москва

korotkovaha@yandex.ru

Проблема эффективной доставки остается актуальной в современной медицине. Сами по себе терапевтические агенты (например, наночастицы) могут поглощаться печенью, фагоцитироваться клетками Купфера. Есть разные подходы для увеличения специфичности препарата.

Одним из актуальных подходов - создание биомиметических наночастиц. Используя клеточные мембраны для инкапсулирования таргетного агента, можно объединить свойства естественных клеточных мембран со свойствами самой наночастицы. Преимущество этого подхода в том, что можно избежать трудоемких работ с разработкой белка (антител, каркасных белков и т.п.) и использовать естественные механизмы адгезии, маскировки от иммунного ответа. Мембраны раковых клеток позволяют доставлять агент благодаря молекулярному распознаванию и адгезии на поверхности раковых клеток, обладающих аналогичным набором белков. Поскольку раковые клетки содержат ядро, для получения везикул требуется более сложный процесс извлечения их внутреннего содержимого.

Несмотря на большое количество публикаций, на данный момент не существует универсальных протоколов для синтеза везикул из клеточных мембран. Механизмы инкапсуляции наночастиц до конца не изучены и демонстрируют низкую эффективность покрытия.

В этой работе мы исследовали влияние различных методов синтеза везикул из мембран раковых клеток и протоколов покрытия ими наночастиц на итоговые характеристики терапевтических агентов. Мембраны извлекали из клеток СТ-26 (линия клеток колоректального рака мыши), В16-F1 (клеточная линия мышшиной меланомы). Были сделаны выводы об оптимальных условиях синтеза биомиметических наночастиц.

9.33. *In vitro* ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИТОХОНДРИЙ НА ПОГЛОЩЕНИЕ НАНОАГЕНТОВ

Крючков Д.Ю.¹, Бабкова Ю.С.², Зеленукин И.В.^{2,3}

¹Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ", Москва, Россия

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

³Упсальский университет, Уппсала, Швеция
kriu4ckov.dmitry@yandex.ru

Обеспечение эффективного транспорта наноагентов в целевые органы и ткани является открытой проблемой современных биомедицинских исследований. *In vitro* было продемонстрировано связывание изолированных митохондрий с наноагентами и их проникновение в раковые клетки. Ранее в лаборатории молекулярной иммунологии ГНЦ ИБХ РАН был проведен анализ распределения комплексов флуоресцентных наночастиц с митохондриями, введенных мышам внутривенно. При этом наблюдалось значительное накопление наночастиц в легких. Было выдвинуто предположение, что митохондрии, используемые в качестве носителей наноагентов, могут обеспечить их эффективную доставку в легкие.

В настоящем исследовании было изучено накопление наночастиц с инкапсулированным флуоресцентным красителем *in vitro* в присутствии митохондрий для подтверждения влияния этих органелл на поглощение наночастиц. Митохондрии извлекались из печени мыши методом гомогенизации тканей с последующим центрифугированием. В качестве модельных наноагентов были выбраны наночастицы на основе сополимера молочной и гликолевой кислот, модифицированные хитозаном, с инкапсулированным красителем Nile Blue A. Для имитации клеток легочной ткани были выбраны клетки аденокарциномы легкого линии A549. Клетки инкубировали с наночастицами в течение суток, после чего накопление наночастиц оценивалось по интенсивности флуоресценции клеток. Измеренная интенсивность флуоресценции была на 40% выше для клеток, инкубированных с комплексом митохондрий и наночастиц, по сравнению с клетками, инкубированными со свободными наночастицами. Таким образом, было показано, что митохондрии способствуют более эффективному проникновению модельных наночастиц в клетки аденокарциномы легкого.

9.34. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ миРНК, СНИЖАЮЩЕЙ УРОВЕНЬ КАТЕПСИНА В В МАКРОФАГАХ M2, НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ РАКОВЫХ КЛЕТОК

Кузнецова А.Б., Егорова В.С.

Научно-технологический университет "Сириус", Краснодарский край,
федеральная территория "Сириус"
alyona.kuznetsova.2002@mail.ru

Ассоциированные с опухолью макрофаги фенотипа M2 являются важной частью микроокружения опухоли. Макрофаги M2 стимулируют ангиогенез, инвазию и метастазирование опухоли, выделяя в межклеточное пространство ангиогенные факторы, протеиназы, цитокины и хемокины. Уровень активности лизосомальной цистеиновой протеиназы катепсина В (CtsB) связывают с прогрессированием опухоли. Остается неизвестным, как супрессия CtsB в макрофагах влияет на пролиферацию раковых клеток.

Исследование влияния супрессии миРНК анти-CtsB проводилось на моноцитах THP-1, активированных в фенотип M2 посредством добавления в среду интерлейкина-4 и полностью-транс-ретиноевой кислоты. Активация макрофагов была подтверждена уровнем экспрессии маркеров M2: маннозного рецептора CD206 (увеличился примерно в 20 раз) и VSIG4 (увеличился примерно в 21 раз). По результатам РТ-ПЦР в активированных макрофагах уровень CtsB примерно в 9 раз выше, чем в THP-1. Вестерн-блоттинг продемонстрировал усиление полосы, соответствующей каталитически активной форме CtsB, в макрофагах M2 в сравнении с моноцитами. После трансфекции наиболее эффективной миРНК анти- CtsB (последовательность миРНК 5'-GUGUAGCAAGAUCUGUGAGCCTT-3') наблюдается снижение уровня экспрессии гена CtsB примерно в 8 раз и снижение уровня белка примерно в 2,5 раза.

Влияние супрессии катепсина В в клетках M2 после трансфекции миРНК на пролиферацию клеток аденокарциномы легкого A549 оценивали методом зарастания царапины в монослое клеток и оценивая размер колоний после добавления кондиционной среды от макрофагов M2, трансфицированных миРНК анти-CtsB, трансфицированных контрольной РНК, и контрольных клеток M2 без обработки. В результате при супрессии CtsB в M2 эффективность зарастания царапины клетками A549 снижалась на 35%, а размер колоний снижался на 49% в сравнении с клетками A549 после добавления среды от необработанных миРНК макрофагов M2. Таким образом, уровень экспрессии CtsB в макрофагах M2 способствует снижению пролиферации раковых клеток.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 23-75-01155.

9.35. ФОРМИРОВАНИЕ ГИАЛУРОНОВЫХ ГИДРОГЕЛЕВЫХ СКАФФОЛДОВ *in situ* В ХОДЕ РЕАКЦИИ, АКТИВИРУЕМОЙ КРАСНЫМ СВЕТОМ, КАК ПОДХОД ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЛУБОКИХ РАН

Кузьяева В.И.^{1,2}, Сочилина А.В.^{1,2,3}, Савельев А.Г.³, Простякова А.И.¹, Сафонова Е.А.², Генералова А.Н.^{1,3}

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

²Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва

³НИЦ "Курчатовский институт", Москва
kuzyaeva.valeriya@mail.ru

Проникающие раны с глубоким повреждением тканей представляют собой серьезную проблему для регенеративной медицины, поскольку традиционные методы лечения в таких случаях часто не могут эффективно справиться с совокупностью различных факторов, препятствующих регенерации, например, со сложной топологией повреждённых тканей и риском инфекций. Многообещающим направлением лечения является формирование биосовместимых гидрогелевых филлеров, заполняющих рану непосредственно в организме. Одним из наиболее подходящих материалов для выполнения данной задачи являются гидрогелевые скаффолды на основе гиалуроновой кислоты (ГК) - полисахарида, который имитирует естественный внеклеточный матрикс и обеспечивает благоприятную среду для восстановления тканей. ГК скаффолды можно получать различными способами, однако большинство из них сложны при формировании гидрогеля *in situ*, например из-за невозможности контролировать время сшивки и неподходящей биодegradации материала. Одно из решений этой задачи связано с созданием новых композиций и методов формирования скаффолдов с помощью реакции фотоиндуцируемой сшивки.

В данной работе проводили химическую модификацию ГК глицидилметакрилатом для введения двойных связей, способных вступать в фотоиндуцированную радикальную реакцию сшивки. Для активации процесса фотосшивки в качестве фотоинициатора использовали водорастворимое производное фталоцианина, возбуждаемое видимым светом из красного диапазона спектра (660 нм), проходящего через живую ткань на большую глубину (>10 мм). В качестве соинициатора для ускорения реакции был использован меркаптоэтанол. Исследование физико-химических свойств скаффолдов, а также использование фантомов, имитирующих рассеяние света тканями организма, позволило выявить закономерности для управления механическими свойствами, степенью адгезии и структурной сшитых гидрогелей для адаптации к свойствам мягких тканей организма.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 24-73-10192.

9.36. ПОЛИМЕРНЫЕ МИЦЕЛЛЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОНА, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ЛИГАНДОМ DR5-B, ДЛЯ ТАРГЕТНОЙ ДОСТАВКИ В РАКОВЫЕ КЛЕТКИ

Куликова Д.И.^{1,2}, Куковьякина Е.В.², Гилева А.М.^{1,2}, Яголович А.В.³, Кусков А.Н.², Марквичева Е.А.¹

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

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

³Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

dk.2003lll@mail.ru

Известно, что наноносители, модифицированные специфическими лигандами и загруженные противораковыми препаратами, перспективны для направленной (таргетной) доставки в раковые клетки. Преимуществами полимерных мицелл от других наноносителей является их высокая стабильность, эффективности инкапсулирования и возможности модификации. Полученный нами ранее рекомбинантный белок DR5-B является мутантом вариантом цитокина TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand), который адресно связывается только с раковыми (но не нормальными) клетками, вызывая их апоптоз [1].

Цель работы заключалась в получении полимерных мицелл на основе поливинилпирролидона (ПВП), модифицированных лигандом DR5-B (ПМ-DR5-B), и изучение эффективности их накопления, а также цитотоксичности в 2D и 3D моделях *in vitro*. Цитотоксичность ПМ-DR5-B изучали методом МТТ-теста, а эффективность накопления - с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии с использованием клеточной линии U-87 MG (глиома головного мозга человека).

Обнаружено, что ПМ-DR5-B накапливались в клетках монослойной культуры (2D модель *in vitro*) уже после 15 мин инкубации, а через 1 ч их количество существенно возросло. В случае опухолевых сфероидов (3D модель *in vitro*) наблюдали аналогичные эффекты, но накопление происходило медленнее, что можно объяснить более сложным проникновением образцов внутрь многослойной структуры сфероидов. Исследование цитотоксичности показало, что ПМ-DR5-B вызывали гибель раковых клеток, тогда как мицеллы без лиганда DR5-B были нетоксичны даже после 72 ч инкубации.

Таким образом, полимерные мицеллы на основе ПВП, модифицированные лигандом DR5-B, можно предложить в качестве основы при разработке в будущем новых эффективных противораковых препаратов с таргетной доставкой.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант №23-15-00468).

Литература

1. Gasparian, M.E. et al. (2009). Generation of new TRAIL mutants DR5-A and DR5-B with improved selectivity to death receptor 5. *Apoptosis* 6:778-787.

9.37. АНАЛИЗ ХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШЕЙ С ГИПЕРЭКСПРЕССИЕЙ БЕЛКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА МЕТОДАМИ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ

Литвинова В.В.¹, Шарова С.О.¹, Белицкая Е.Д.², Макаренко В.Ю.², Залыгин А.В.³, Олейников В.А.²

¹Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ", Москва

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

³Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, Москва

vikalit12072003@gmail.com

Было проведено изучение содержания белков теплового шока в различных участках мозга трансгенных мышей, которое позволяет проанализировать биохимические изменения головного мозга мышей вследствие гиперэкспрессии белков теплового шока.

Цель исследования: разработать способ определения и анализа содержания белков теплового шока массой 70 кДа в срезах ткани головного мозга трансгенных мышей методом классификации спектров комбинационного рассеяния.

На конфокальном рамановском микроскопе было произведено измерение спектров комбинационного рассеяния срезов головного мозга.

Полученные данные проходили математическую предобработку, включавшую нормализацию, удаление выбросов и базовой линии, снижение размерности и фильтрацию шума. Обучено 4 модели классификации спектров комбинационного рассеяния, 2 из которых показали высокую точность дифференцировки спектров со срезов мозга мышей интактной группы и мышей с гиперэкспрессией белка теплового шока массой 70 кДа.

В результате обработки спектров получено, что наиболее значимыми для классификации являются 8 пиков в низкочастотной и 5 пиков в высокочастотной областях, которые затем были интерпретированы. Определено, каким связям отвечают данные пики, и что изменяется в биохимическом составе ткани при изменении соотношения их интенсивностей.

9.38. ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОНКОГЕНОВ В ГЛИОБЛАСТОМЕ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ АГЕНТОВ

Мазур Д.В., Антипова Н.В.

ГНЦ РФ Институт биоорганической химии. им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
dianamazur@yahoo.com

На данный момент глиобластома (GBM) является неизлечимой опухолью центральной нервной системы. Опухоль отличается высокой гетерогенностью морфологических и генетических особенностей клеток. Она склонна к инфильтрации в окружающие здоровые ткани мозга, в связи с этим радио- и химиотерапия не показывает эффективности. При этом GBM является опухолью с высокой транскрипционной дерегуляцией, в которой важную роль играют транскрипционные факторы (ТФ). ТФ регулируют экспрессию различных онкогенов, и кроме того, регулируют друг друга. В итоге, дерегуляция ТФ приводит к аберрантному транскрипционному перепрограммированию, лежащему в основе многих заболеваний человека, в том числе и GBM. Интересно то, что в GBM встречается нарушение копияности онкогена MYCN, который как ТФ напрямую регулирует транскрипцию целого пула генов, которые участвуют в контроле пролиферации, выживания и самообновления клеток, обеспечивая патологию опухоли и играя онкогенную роль. В связи с этим актуально изучение различных механизмов нарушения транскрипции генов и выявление возможных мишень-направленных лекарств для GBM.

В работе были использованы клеточные линии GBM и первичные культуры, полученные от пациентов. Проведен резазурин-тест для оценки выживаемости клеток после воздействия химиопрепаратов. Проанализированы изменения экспрессии различных онкогенов после инкубации с темозоломидом (TM3) и молекулой 10058-F4, которая препятствует димеризации комплекса MYCN-Max и оказывает противоопухолевое действие в линиях нейробластомы с повышенной экспрессией MYCN.

В результате работы показано, что клеточные линии GBM (U251MG, T98G), линии glioblastoma-like (U87MG, U373MG), а также первичные клеточные культуры оказались устойчивы к химиопрепаратам. Важно, что в MYCN-положительной 022 культуре мы не заметили противоопухолевого эффекта 10058-F4. Кроме того, мы инкубировали клетки с 10058-F4 и TM3 вместе и по отдельности в течении 24 часов, при этом в MYCN+ клетках после воздействия некоторых комбинаций, экспрессия MYCN и связанных с ним генов (HAND2, PNOX2A, PNOX2B) падала, после воздействия других комбинаций возрастала. Интересно то, что в MYCN- клетках после воздействия различных комбинаций химии, экспрессия MYCN возрастала, а экспрессия связанных с ним генов была представлена дифференциально. Предположительно, данные онкогены могут быть задействованы в лекарственной устойчивости культур GBM.

Работа выполнена в рамках проекта РНФ № 24-15-00097

9.39. СОЗДАНИЕ КОМПЛЕКСОВ ПРОИЗВОДНОГО ХЛОРИНА p_6 С АПКОНВЕРТИРУЮЩИМИ НАНОЧАСТИЦАМИ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ

Николаева М.Е.¹, Демина П.А.^{1,2}, Генералова А.Н.², Хайдуков К.В.¹, Акасов Р.А.¹, Хайдуков Е.В.^{1,2,3}

¹Московский педагогический государственный университет, Москва

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

³Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва

mesarycheva@gmail.com

Фотодинамическая терапия (ФДТ) - перспективный терапевтический подход, позволяющий провести селективное уничтожение опухолей благодаря активации фотосенсибилизатора (ФС) светом заданной длины волны. Производные хлорофилла *a* широко используются в качестве ФС в противораковой ФДТ. Главное ограничение использования производных хлорофилла *a* в ФДТ - низкая проникающая способность видимого света, используемого для активации молекул ФС.

В качестве подхода к решению этой проблемы мы предложили использование наночастиц с апконвертирующей флуоресценцией (НАФ), которые могут преобразовывать глубоко проникающий инфракрасный свет (975 нм) в фотоны видимого диапазона спектра (660 нм) и активировать молекулы ФС. Целью данной работы было получение комплекса ФС-НАФ на основе наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{M}$ ($\text{M}=\text{Yb}^{3+}:\text{Er}^{3+}$)/ NaYF_4 и амфифильного производного хлорина p_6 , способного к связыванию с гидрофобной поверхностью наночастиц.

Было синтезировано амфифильное производное хлорина p_6 , содержащее гидрофильный остаток метилового эфира полиэтиленгликоля ($\text{Mn} = 2000$ г/моль) и остаток октадециламина в виде амидов в 3- и 17³-положениях соответственно, которое конъюгировали с НАФ за счет гидрофобных взаимодействий. Эффективность безызлучательного переноса энергии с НАФ на ФС в таких комплексах составила 19%.

Было показано, что полученное производное обладает высокой световой токсичностью *in vitro* в субмикромольном диапазоне (0,3-0,5 мкМ) в культуре клеток аденокарциномы молочной железы MCF-7 человека и иммобилизованных фибробластов, что на порядок превышает цитотоксичность коммерческого ФС (Фотодитазин, хлорин *e_6*).

Таким образом, было продемонстрировано создание комплекса ФС-НАФ на основе апконвертирующих наночастиц и амфифильного производного хлорина p_6 с высокой световой цитотоксичностью *in vitro*.

Работа выполнена в рамках темы госзадания Министерства просвещения РФ № 122122600055-2.

9.40. ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМЫЕ СУБ-МИКРОЧАСТИЦЫ ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ДОКСОРУБИЦИНА К HER2-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ ОПУХОЛЯМ

Обозина А.С., Юрьева А.М., Сизиков А.А., Шипунова В.О.

Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет) - Институт биофизики будущего, Долгопрудный
anastasiya.obozina@gmail.com

Адресная доставка лекарств открывает новые возможности в лечении онкологических заболеваний, позволяя точно уничтожать опухолевые клетки с минимальными побочными эффектами. Одним из важных классов адресных лекарственных средств являются конъюгаты антитело-препарат и иммунотоксины, некоторые из которых уже одобрены для клинического применения. Однако синтез полноразмерных антител и их последующая химическая конъюгация с активным соединением остаётся нестабильным и сложным многоступенчатым процессом. В качестве альтернативы для адресной доставки лекарств предлагается использование самособирающихся белковых наночастиц, которые возможно легко и воспроизводимо получать биотехнологическими методами [Obozina et al, Pharamaceutics, 2023]. В данной работе был получен генетически кодируемый слитый белок $Z_{HER2:342}$ -Strp, который воспроизводимо синтезируется и самособирается в субмикрочастицы в клетках *E. coli* без надобности в химической конъюгации. $Z_{HER2:342}$ -Strp объединяет в себе аффибоди $Z_{HER2:342}$, способный связываться с рецептором HER2, и стрептавидин. Результаты проточной цитометрии подтвердили способность частиц специфично связываться с рецептором HER2 на поверхности раковых клеток с повышенной его экспрессией. Для оказывания противоопухолевого эффекта суб-микрочастицы были загружены химиопрепаратом доксорубицином ($Z_{HER2:342}$ -Strp-Dox) и продемонстрировали далее значительную цитотоксичность к HER2-сверхэкспрессирующим клеткам. *In vivo* исследования на мышах линии BALB/c, несущих HER2-положительную опухоль, показали способность $Z_{HER2:342}$ -Strp-Dox накапливаться в опухоли и эффективно подавлять их рост по сравнению со свободным доксорубицином.

По результатам данного исследования можно сделать вывод, что разработка новых адресных препаратов на основе самособирающихся наночастиц открывает новые перспективы для создания более эффективных и безопасных методов лечения онкологических заболеваний.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России, проект FSMG-2023-0015.

9.41. ОСОБЕННОСТИ ТЕХНИЧЕСКОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ МЕДИЦИНСКИХ ГАЗОВ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ИНЕРТНЫХ ГАЗОВ

Першикова Е.Р.^{1,2}, Петров В.А.¹, Иванов А.О.¹, Моргунов Н.А.¹, Куданов Я.В.¹, Майоров И.В.¹

¹ООО "Научно-исследовательский институт Геропротекторных технологий", Санкт-Петербург

²Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный
info@geropro.ru, pershikova.er@phystech.edu

Поддержание жизни человека на доврачебном этапе при ишемических заболеваниях, а также массивной кровопотере, является важной задачей. В настоящее время все больше исследований направлено на изучение антигипоксических, антиишемических эффектов смесей кислорода с инертными газами (ИГ) - Ar, Xe, Kr - и на исследование безопасности таких смесей.

Важнейшим вопросом на этапе доклинических исследований является изучение общетоксических свойств лекарственного препарата (ЛП). Такие работы предполагают длительную экспозицию в исследуемой смеси газов двух видов лабораторных животных (ЛЖ), что требует наличия специализированного оборудования. Для этих целей в ООО "НИИ ГЕРОПРО" разработано устройство "Спасатель-микс", оснащенное датчиками CO₂, O₂, Ar и Xe или Kr, автоматическими клапанами подачи газа, побудителем расхода, обеспечивающими создание и контроль многокомпонентных смесей газов во внешнем объеме. Исходные компоненты смеси подаются через разъемы в устройство "Спасатель-микс" из баллонов высокого давления (БВД). Устройство может подключаться к герметичной камере, в которую помещаются ЛЖ, или к замкнутому дыхательному контуру и позволяет поддерживать в них необходимый состав газовой смеси, температуру и влажность. Время достижения заданных концентраций компонентов ЛП составляет около 15 минут. Очистка среды от CO₂ и водяных паров осуществляется путем прохождения исследуемой газовой смеси через контейнеры с натронной известью и силикагелем. При подаче компонентов из БВД в камеру КГЭЛ-1 избыточное давление автоматически стравливается через клапан сброса. Для оценки эффективности ЛП на крупных ЛЖ используется комбинация устройства "Спасатель-микс" и аппарата ИВЛ для подачи смеси по замкнутому дыхательному контуру. Разработанное ООО "НИИ ГЕРОПРО" оборудование апробировано при проведении исследований в ФГБУ "НМИЦ им. В.А. Алмазова" Минздрава России, ФГБУ "НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева", ФГБУ "НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России".

С использованием устройств "Спасатель-микс" и камеры КГЭЛ-1 выполнены доклинические исследования на эффективность и безопасность разрабатываемых ЛП "Ароксен" и "Ароксен-крипто".

9.42. ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ РАННЕГО ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ ЖИВОЙ ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ГЕТЕРОЛОГИЧНОЙ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

Петрачкова Д.С., Рекстин А.Р., Майорова И.В., Копылова Н.В., Гузенков Д.С., Соколовский Д.С., Дешева Ю.А.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург
ya.dashook@yandex.ru

Инфекции, вызванные вирусами гриппа, являются важной причиной заболеваемости и летальности в мировом масштабе. Живая гриппозная вакцина (ЖГВ) отличается простотой интраназального введения, экономичностью и быстрым производством, стимулирует системный и локальный иммунный ответ. Целью исследования являлось экспериментальное изучение механизмов ранней защиты против гетерологичной гриппозной инфекции после иммунизации ЖГВ.

Методы. В экспериментах *in vitro* мы изучали продукцию интерферонов I типа в культуре клеток моноцитарно-макрофагального происхождения. Уровни ранних цитокинов (ФНО- α , ИЛ-6) и интерферона I типа (ИФН- α) определяли с использованием ИФА. Мышей иммунизировали интраназально под легким эфирным наркозом вакцинным вирусом ЖГВ А/17/Южная Африка/2013/01(H1N1)pdm09 в дозе 6,0 Ig ЭИД₅₀. Заражение проводили на 6-е сутки после иммунизации вирусом А/Индонезия/5/2005(H5N1) IDCDC-RG2.

Результаты. При введении в культуру клеток ТНР-1 как вакцинного вируса, так и родительского вируса "дикого" типа А/Южная Африка/3626/2013(H1N1)pdm09, наблюдалось увеличение продуктов ранних цитокинов ФНО- α , ИЛ-6 и ИФН- α . Стимуляция ранних цитокинов и их рецепторов при вакцинации влияет на формирование иммунной защиты.

Иммунизация мышей вакцинным штаммом ЖГВ на основе пандемического вируса гриппа А/H1N1pdm09 на 5 день после интраназального введения обеспечила 100% защиту от инфицирования гетерологичным вирусом, тогда как в группе неиммунизированных мышей 90% животных погибли к 13-му дню после заражения. Таким образом, иммунизация ЖГВ обеспечила полную защиту от летальной инфекции гетерологичным вирусом гриппа.

Заключение. Полученные данные могут свидетельствовать о преимуществах использования ЖГВ в период сезонного увеличения заболеваемости острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ) за счет стимуляции факторов врожденного иммунитета.

Исследование выполнено за счет средств гранта Российского научного фонда № 24-24-00238, <https://rscf.ru/project/24-24-00238/>.

9.43. ГЕНЫ KLF4 И KLF6 КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ МИШЕНИ ТЕРАПИИ НЕЙРОГЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

Петросян Э.Г., Мазур Д.М., Антипова Н.В.

ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
ms.aly.aly@mail.com

Мультиформная глиобластома - опухоль головного мозга 4 степени злокачественности. Новообразование характеризуется высокой степенью гетерогенности, которая вызвана гипоксией (как следствие дефектной сосудистой системы опухоли) и инфильтрацией его клеток в здоровые ткани головного мозга. Стандартное лечение, включающее резекцию опухоли с последующей радио- и химиотерапией темозоломидом, мало эффективно - пятилетняя выживаемость не превышает 5%. KLF4 - один из факторов стволовости Яманаки, а KLF6 описан как опухолевый супрессор в некоторых типах рака. Поэтому, изучение генов KLF4 и KLF6 как потенциальных мишеней терапии нейрогенных опухолей актуально.

В исследовании представлены клеточные линии (U87MG, T98G, U251MG, U373MG) и первичные клеточные культуры (006, 010, 011, 019, 020, 022, 025, 030, 067, 1079) мультиформной глиобластомы. Был проведен транскриптомный анализ генов KLF4 и KLF6 в первичных культурах и определены уровни экспрессии генов KLF4 и KLF6 методом ПЦР в реальном времени с использованием специфичных праймеров.

Анализ клеточных линий показал, что KLF4 экспрессируется только в U251, а KLF6 экспрессируется дифференциально. В первичных клеточных культурах KLF4 практически не представлен, однако присутствует в 010 и 067 культуре, что соответствует их мезенхимальному подтипу, ген KLF6 представлен в следующих первичных культурах 006, 010, 011, 020, 025, 030, 019, 067, однако практически не экспрессируется в 022 и 1051 культуре.

В связи с дифференциальной экспрессией KLF4 и KLF6 в культурах глиобластомы предполагается создание системы для его нокадауна и оверэкспрессии, чтобы изучить роль данных транскрипционных факторов в прогрессии и инвазии глиобластомы. Кроме того, интересны изменения экспрессии KLF4 и KLF6 после воздействия химиотерапии на культуры глиобластомы.

Работа выполнена в рамках проекта РНФ № 24-15-00097 по теме "Идентификация генов - потенциальных мишеней терапии нейрогенных опухолей".

9.44. КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ИММУНОТОКСИНА DARP- loPE И ПРОТИВОРАКОВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА HER2- ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ КЛЕТКИ

Подoliaко В.В.¹, Котельникова П.А.^{2,3}, Деев С.М.^{2,3,4}

¹Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный

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

³Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, Москва

⁴НИЦ "Курчатовский институт", Москва

podoliako.vv@phystech.edu

В наше время онкологические заболевания являются одной из самых актуальных проблем человечества. Традиционные методы лечения, такие как химиотерапия, обладают недостатками, включая неспецифичность воздействия, что приводит к выраженным побочным эффектам. Также опухоли могут развивать резистентность к препаратам, что приводит к снижению эффективности лечения. В связи с этим, разрабатываются новые методы и подходы к решению этой проблемы.

Иммунотоксины представляют собой рекомбинантные белки, состоящие из двух доменов: токсичной и адресной части, специфично связывающейся с раковыми клетками. На сегодняшний день несколько препаратов на основе иммунотоксинов находятся на стадии клинических испытаний. Также исследуется комбинированное применение иммунотоксинов и противоопухолевых препаратов, что позволяет достичь усиления эффективности последних. DARP-loPE - иммунотоксин на основе белка дарпина (DARPin_9-29), направленного на рецептор HER2, и низкоиммуногенного фрагмента псевдомонадного экзотоксина А (LoPE). Онкомаркер HER2, рецептор эпидермального фактора роста 2 человека, играет важную роль в развитии злокачественных опухолей и часто сверхэкспрессируется на клетках рака молочной железы, яичника и многих других.

В нашем исследовании мы выделили и очистили методом аффинной хроматографии рекомбинантный иммунотоксин DARP-LoPE. Также мы исследовали комбинированное воздействие DARP-LoPE и химиотерапевтических препаратов (таких как паклитаксел и цисплатин) *in vitro* на положительные клетки линий карциномы молочной железы (BT-474) и карциномы яичника человека (SKOVip) со сверхэкспрессией рецептора HER2. Данные исследования помогут найти оптимальную комбинацию для лечения опухолей *in vivo* и помогут в дальнейшем найти область эффективного применения иммунотоксинов в клинической практике.

Работа выполнена при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации 075-15-2024-536 (Онкогераностика и проблемы резистентности к противоопухолевым и антибактериальным препаратам).

9.45. ВИЗУАЛИЗАЦИЯ СТРУКТУР В ГЛУБОКИХ ТКАНЯХ НА ПРИМЕРЕ СОСУДОВ В ЛЕГКИХ: ОБРАБОТКА ИЗОБРАЖЕНИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ ПОМОЩИ ДВУХФОТОННОЙ МИКРОСКОПИИ

Портнов С.А.^{1,2}, Шаляпин С.С.^{1,2}, Богородский А.О.³, Борщевский В.И.³, Шевченко М.А.¹

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

²Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ", Москва

³Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный
mancitytop@mail.ru

Фибриллярный коллаген, являющийся основным структурным компонентом стенок сосудов, позволяет визуализацию сосудов за счет генерации второй оптической гармоники (ГВГ). Однако, коллаген содержится не только в стенках сосудов, в легких он также является компонентом базальной мембраны дыхательных путей.

Целью данной работы была оптимизация обработки изображения доли легкого, полученного при помощи двухфотонной микроскопии, позволяющей визуализировать дыхательные пути и кровеносные сосуды.

Работу проводили с изображениями легких мышей, окрашенных стрептавидином, конъюгированным с AlexaFLuor488. Для получения изображений использовали конфокальный микроскоп ZeissLSM780 с лазером 1030 нм. Спектральное разделение проводили с помощью программного обеспечения Zen. Обработку изображений проводили в программном обеспечении Imaris.

Ранее на примере небольшого сегмента доли легкого нами была продемонстрирована возможность разделения структур с использованием программного обеспечения FIJI. При масштабировании данного подхода на целую долю легкого возникали трудности с переносом изображения из одного программного обеспечения в другое: искажение размеров, длительность процедуры. В связи с этим нами был разработан подход с использованием классификации поверхности ГВГ на основе фильтров в программном обеспечении Imaris: часть поверхности, имеющая вид кровеносных сосудов, выделялась одним цветом, а часть поверхности, представляющая дыхательные пути, другим.

Процесс построения поверхности кровеносного сосуда на основе фильтров и разбиения на участки оказался более точным и менее затратным по времени.

9.46. СНИЖЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В МОЗГЕ ВЗРОСЛЫХ КРЫС, ПЕРЕЖИВШИХ ПРЕНАТАЛЬНУЮ ГИПОКСИЮ, СОПРЯЖЕННУЮ СО СТРЕССОМ МАТЕРИ, ВЫЗЫВАЕТ СКЛОННОСТЬ К НИКОТИНОВОЙ ЗАВИСИМОСТИ ЧЕРЕЗ НАРУШЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ $\alpha 7$ -nAChR

Потанова С.С., Стратилов В.А., Ветровой О.В.

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург
sofiya-potanova@mail.ru

Клинические и экспериментальные данные показывают, что гипоксия плода может предрасполагать к аддиктивным расстройствам, включая никотиновую зависимость, во взрослом возрасте. Однако материнский стресс и гипоксия чаще всего являются сопряженными состояниями, и роль глюкокортикоидного ответа матери в формировании склонности к никотиновой зависимости еще не до конца изучена. Данное исследование направлено на сравнительный анализ роли гипоксии плода и материнского стрессорного ответа на гипоксию в формировании склонности к никотиновой зависимости у взрослого потомства крыс.

Эксперименты проводили на крысах линии Вистар. Для разделения эффектов гипоксии и стресса матери мы использовали модель гипобарической пренатальной гипоксии (ПГ) с выраженным глюкокортикоидным ответом у матери и модель хронической ишемии плода (ИП), которая не вызывает глюкокортикоидного ответа матери.

В гиппокампе ПГ и ИП крыс был повышен уровень белка HIF1 α , однако только в группе ПГ происходило снижение уровня глюкокортикоидных рецепторов, снижение транскрипции глюкокортикоид-зависимых генов и нарушение глюкокортикоидной циркадианной динамики, что указывает на соответствие моделей целям исследования. Только в группе ПГ мы выявили признаки никотиновой зависимости и синдрома отмены. Также в группе ПГ (но не ИП) мы наблюдали увеличение доли фосфорилированного белка DARPP-32 в прилежащем ядре стриатума без изменений содержания дофаминовых рецепторов 1 и 2 типа, тирозингидроксилазы и концентрации дофамина, что может указывать на нарушение глутаматергической передачи. Кроме того, в гиппокампе и префронтальной коре ПГ (но не ИП) крыс мы наблюдали глюкокортикоид-зависимое снижение экспрессии $\alpha 7$ -nAChR, который является единственной субъединицей, экспрессирующейся на глутаматергических проекциях к прилежащему ядру.

Таким образом, нарушения в глюкокортикоидной нейроэндокринной системе и экспрессии $\alpha 7$ -nAChR у потомства крыс связаны со стрессорным ответом матери на гипоксию во время беременности, что предрасполагает к склонности к развитию никотиновой зависимости во взрослом возрасте.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 22-75-00003).

9.47. ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ И СОСТАВА НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛ-ОРГАНИЧЕСКИХ КАРКАСНЫХ СТРУКТУР НА ГЕНЕРАЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА

Похорукоев Д.А.^{1,2}, Грязнова О.Ю.^{1,2,3}, Горин Д.А.³, Деев С.М.^{1,2}

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

²Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ", Москва

³Сколковский институт науки и технологий, Москва
yvileapsis@gmail.com

Металл-органические каркасные структуры (МОКС) - это класс гибридных пористых материалов, состоящих из ионов металлов и органических лигандов, структурированных в кристаллическую решетку. МОКС обладают высокой пористостью и способны удерживать молекулы внутри своей кристаллической решетки, что в сочетании с их способностью к генерации активных формы кислорода (АФК) посредством фотокатализа делает их как перспективным средством фильтрации различных загрязнителей, так и интересным агентом для проведения фотодинамической терапии [1].

Несмотря на большое количество работ, посвященных фотокаталитической активности МОКС в видимом свете, большинство из них используют солнечный свет. Альтернативный подход с использованием лазеров для проведения фотокатализа имеет ряд преимуществ: четкое разделение влияния АФК на краситель и прямого воздействия света, возможность обнаружить даже слабую фотокаталитическую активность наночастиц, а также точный контроль интенсивности и мощности лазера, позволяющий сравнивать каталитические эффекты при различных длинах волн фотонов.

Целью данной работы было сравнение МОКС-наночастиц с одинаковой кристаллической структурой и различными ионами металлов по их способности разлагать органические красители в водном растворе. Для этого были синтезированы МОКС на основе Al, Fe, Cr, Zr, Ce и Hf, и охарактеризованы методами динамического рассеяния света, оптической спектроскопии, сканирующей электронной микроскопии и рентгеновской кристаллографии. Фотокаталитическая активность МОКС под воздействием лазерного излучения с длинами волн 450 нм, 532 нм, 650 нм, 808 нм была охарактеризована на водных растворах Rhodamine B по изменению спектров поглощения красителя.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2024-536.

Литература

1. Ni, K., Lan, G., & Lin, W. (2020). Nanoscale Metal-Organic frameworks generate reactive oxygen species for cancer therapy. *ACS Central Science*, 6(6), 861-868. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c00397>.

9.48. ГЕНЫ RHOX2A И RHOX2B КАК РЕГУЛЯТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ НЕЙРОГЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

Резекина А.И., Мазур Д.В., Антипова Н.В.

ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
anastasiar03@gmail.com

Мультиформная глиобластома - одна из наиболее агрессивных форм нейрогенных опухолей, её главной особенностью являются быстрое развитие, активное метастазирование и клеточная гетерогенность. Последняя существенно затрудняет поиск лечения, на данный момент эффективность используемых методов чрезвычайно мала, и поэтому изучение молекулярных путей для разработки таргетной терапии в настоящее время является актуальной задачей. RHOX2A и RHOX2B - транскрипционные факторы, играющие важную роль в развитии нервной системы. Интересно то, что RHOX2A и RHOX2B участвуют в регуляции уровня экспрессии друг друга и многих генов, ответственных за пролиферацию. Исследования демонстрируют, что экзогенное повышение количества RHOX2B приводит к увеличению количества RHOX2A. Оба гена весьма внимательно изучены в клетках глиобластомы, тогда как данные о влиянии на онкогенный процесс в глиобластоме скудны. В связи с этим, актуально изучение регуляции экспрессии данных генов и их роль в клетках глиобластомы.

В данной работе была исследована экспрессия генов RHOX2A и RHOX2B на уровне мРНК в клеточных линиях и первичных культурах мультиформной глиобластомы, полученных от пациентов, с помощью ПЦР в реальном времени.

Результаты показали, что данные гены в клеточных линиях U87MG и T98G экспрессируются на низком уровне, в других экспрессия не детектирована. В первичных культурах глиобластомы экспрессируются дифференциально, причём опухоль с мезенхимальным подтипом демонстрирует более высокие уровни обоих генов, чем опухоли с пронейрональным подтипом. Кроме того, более высокие уровни экспрессии в пронейрональных линиях показаны для RHOX2A, но не для RHOX2B. Рассматривается возможность их оверэкспрессии в культурах как по отдельности, так и совместно. Кроме того, интересна дифференциальная экспрессия RHOX2A и RHOX2B и их зависимость друг от друга в культурах клеток, выращенных на стандартной среде с сывороткой, и на среде, содержащей добавку для обеспечения жизнедеятельности нейронов NS-21, основной фактор роста фибробластов и эпидермальный фактор роста.

Работа выполнена в рамках проекта РНФ № 24-15-00097.

9.49. УПРАВЛЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКОЙ НАНОЧАСТИЦ ПОСРЕДСТВОМ БЛОКАДЫ СИСТЕМЫ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ФАГОЦИТОВ ЛИПОСОМАМИ РАЗНЫХ РАЗМЕРОВ

Родионов В.И.^{1,2}, Миркасымов А.Б.^{2,3}, Беляев Я.Б.², Бабкова Ю.С.²,
Никитин П.И.^{1,4}, Зеленукин И.В.^{2,5}, Деев С.М.^{1,2,3}

¹Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ", Москва, Россия

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

³Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) - Институт молекулярной тераностики, Москва, Россия

⁴ФИЦ Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

⁵Университет Уппсалы - Кафедра иммунологии, генетики и патологии, Уппсала, Швеция

oirodionov.too@gmail.com

Использование наночастиц (НЧ) в медицине позволяет решить проблемы низкой растворимости и токсичности традиционных лекарств, а также делает возможным их направленную доставку. При внутривенном введении НЧ поглощаются макрофагами печени, являющимися частью системы мононуклеарных фагоцитов (СМФ), что снижает циркуляцию НЧ в кровотоке и их накопление в тканях-мишенях. Блокада СМФ малотоксичными наноагентами временно снижает фагоцитарную активность макрофагов, увеличивая циркуляцию частиц и их накопление в патологических тканях.

В работе в качестве блокаторов СМФ использовались липосомы из фосфатидилхолина и холестерина, известные своей биосовместимостью, а эффективность блокады СМФ была изучена в зависимости от их размера в диапазоне от 100 до 500 нм. В результате, все три фракции липосом проявляли низкую токсичность по отношению к клеточной линии макрофагов RAW264.7. Однако, только липосомы размером более 200 нм вызывали блокаду *in vitro*, что приводило к снижению поглощения магнитных НЧ. Крупная фракция липосом обеспечивала наибольшую эффективность блокады *in vivo*, что подтверждается более длительной циркуляцией магнитных НЧ в кровотоке и их более сильному перераспределению из печени в другие ткани. Этот эффект, вероятно, объясняется более высоким поглощением макрофагами липосом большего размера. Данные результаты способствуют рациональному дизайну НЧ для СМФ блокады [1].

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2024-536.

Литература

1. Belyaev I. V. et al. MPS blockade with liposomes controls pharmacokinetics of nanoparticles in a size-dependent manner // Biomedical Materials. 2024. V. 19. No. 6. P. 065022.

9.50. РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ К ДИАГНОСТИКЕ И ТЕРАПИИ ГЛИОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА НА ОСНОВЕ ОПТИЧЕСКОГО ИМИДЖИНГА: ОТ ОБРАЗЦОВ ПАЦИЕНТА ДО ПАЦИЕНТ-СПЕЦИФИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ *in vitro* И *in vivo*

Сачкова Д.А.^{1,2}, Ширманова М.В.¹, Южакова Д.В.¹, Киселева Е.Б.¹, Шеславский В.И.¹, Юсубалиева Г.М.³, Баклаушев В.П.³, Можеров А.М.¹, Бедерина Е.Л.¹, Яшин К.С.¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, Нижний Новгород

²Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

³Федеральный научно-клинический центр ФМБА России, Москва
sachkova.collins@gmail.com

В терапии злокачественных глиом головного мозга остро стоит задача повышения эффективности лечения за счет разработки подходов прижизненной интраоперационной диагностики границ резекции и оценки ответа опухоли на терапию.

В настоящей работе мы исследовали возможности флуоресцентного время-разрешенного имиджинга (FLIM) в канале метаболического кофермента никотинамидадениндинуклеотида (фосфата) (НАД(Ф)Н), высокочувствительного label-free метода, для диагностики и оценки эффективности лечения как на микро-, так и на макроуровне. Визуализация осуществлялась на конфокальном микроскопе LSM 880 (Carl Zeiss, Германия)) либо на конфокальном FLIM/PLIM макросканере на основе время-коррелированного счета одиночных фотонов (TCSPC (Becker & Hickl, Германия)). На первом этапе проводился анализ автофлуоресцентного профиля образцов тканей *ex vivo* головного мозга пациентов (n=25). FLIM позволил выявить высокую внутри- и межопухолевую гетерогенность, а также наличие эндогенного оптического контраста между тканями нормального белого вещества и опухолю пациентов в зависимости от диагноза. На втором этапе, мы исследовали потенциал FLIM-микроскопии для оценки индивидуальной чувствительности первичных клеточных опухолевых моделей глиом к терапии. Разработан протокол для оценки метаболического ответа 2D-клеточных культур и 3D-сфероидов после воздействия различными видами терапии, который может служить платформой для персонализированного скрининга лекарств. Заключительным этапом являлось создание новой высокоинвазивной интракраниальной модели глиобластомы человека у мышей, где FLIM выявил эффективность дифференциации ткани глиобластомы от окружающего белого вещества на основе эндогенного контраста, а также изменения в параметрах автофлуоресценции опухолей под воздействием терапевтических агентов. Таким образом, оптический биоимиджинг на основе FLIM способен выступать в качестве мощного диагностического инструмента и платформы для индивидуального скрининга противоопухолевых препаратов в пациент-специфических моделях глиом.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ (проект № 23-75-10068).

9.51. АДСОРБЦИЯ БЕЛКОВ НА МИКРОПОРИСТЫЕ И НЕТКАНЫЕ МЕМБРАНЫ ИЗ ПОТОКА РАСТВОРА

Сидорова А.Е.¹, Прусаков К.А.^{1,2}, Маслакова А.А.¹, Багров Д.В.^{1,2}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова -
Биологический факультет, Москва

²ФНКЦ физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина
ФМБА России, Москва
sidorova.anastasiya.2003@mail.ru

Иммуноанализ широко применяется в современной медицинской и лабораторной практике. В основе иммуноферментного анализа (ИФА) лежит поэтапная сборка нескольких молекулярных слоев на плоской подложке, причем связывание слоев происходит за счет специфических взаимодействий. Обычно ИФА проводят на плоской подложке - доннышке полистирольного планшета. Чувствительность ИФА может быть улучшена, если отказаться от плоской подложки и перейти на микропористые и, в частности, нетканые мембраны. Они обладают сравнительно высокой удельной поверхностью и могут обеспечить более эффективное связывание как молекул рецепторного слоя, так и молекул аналита. Кроме того, через пористую мембрану можно пропустить сравнительно большой объем пробы - и за счет этого "сконцентрировать" аналит, присутствующий в ней в низкой концентрации. Для этого пробу циклически пропускают через мембрану, на поверхности которой сформирован рецепторный слой.

Целью данной работы была оценка эффективности адсорбции аналитов на микропористые мембраны при пропускании проб через них под давлением. Мембраны были изготовлены из нитроцеллюлозы или полидиоксанона, через них пропускали пробы с помощью специально спроектированной проточной системы. Для сравнения проводили инкубацию мембран в растворах аналита - при этом доставка молекул аналита на мембрану происходила за счет диффузии, и это было менее эффективно, чем при использовании проточной системы.

Мы рассмотрели два механизма связывания: специфическое (иммуноанализ на интерлейкин 1-b (ИЛ1-b)) и неспецифическое (аналитом был бычий сывороточный альбумин, меченый флуорофором циановым третьим (Cy3)). Пропускание растворов проб через мембраны под давлением позволяет усилить адсорбцию в 2,4-11 раз. Полученные результаты можно использовать для разработки высокочувствительных аналитических систем.

9.52. ПОИСК НОВЫХ АУТОАНТИГЕНОВ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

Стасова В.А., Захарова М.Ю., Габиров А.Г.

ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
vstasova28@gmail.com

Введение. Ревматоидный артрит (РА) - системное аутоиммунное заболевание, характеризующееся преимущественно воспалением синовиальной оболочки суставов. Предполагается, что в патогенезе РА одну из важных ролей играет главный комплекс гистосовместимости класса II (МНС II), в частности, ассоциированные с данным заболеванием аллели DRB1*01:01 и DRB1*04:01. МНС II в норме связывает экзогенные антигены, однако при патологических процессах способен презентировать фрагменты собственных белков человека, что может вызвать аутореактивный Т-клеточный ответ.

Цель данной работы - получить в рекомбинантной форме пять предполагаемых аутоантигенных пептидов, ранее идентифицированных у больных ревматоидным артритом, и провести анализ их связывания с DRB1*01:01 и DRB1*04:01 *in vitro*.

Материалы и методы. Для создания генетических конструкций использовали методы ПЦР, рестрикции, лигирования. Далее проводили экспрессию и очистку рекомбинантных пептидов и МНСII. Проводили анализ связывания рекомбинантных аутоантигенов с комплексами МНС II, используя иммуоферментный анализ (ИФА).

Результаты и выводы.

1. Получены экспрессирующие генетические конструкции для 5 потенциальных аутоантигенов - фрагментов белков PARP1 (поли [АДФ-рибоза] полимеразы 1), TTHY (предшественник транстирелина), CALR (предшественник калретикулина), AATM (предшественник 1 изоформы митохондриальной аспартатаминотрансферазы), GPAA1 (гликозилфосфатидилинозитол - заякоривающий белок 1).

2. Нарботаны в прокариотической системе и очищены соответствующие им рекомбинантные пептиды слитные с тиоредоксином, а также рекомбинантные МНС II - DRB1*01:01 и DRB1*04:01.

3. Проведена оценка связывания потенциальных аутоантигенов с аллелями МНС II, ассоциированными с ревматоидным артритом *in vitro*. Показано, что фрагменты белков PARP1 и CALR связываются с DRB1*04:01, пептид AATM связывается с DRB1*01:01. Для пептидов TTHY и GPAA1 связывание с продуктами аллелей МНС II, ассоциированными с РА установлено не было.

Данное исследование проведено при поддержке проекта Министерства науки и высшего образования РФ №075-15-2024-536.

9.53. ФОТООТВЕРЖДАЕМЫЕ ДВУХСЛОЙНЫЕ ГИДРОГЕЛИ С ИНКОРПОРИРОВАННЫМИ КЛЕТОЧНЫМИ СФЕРОИДАМИ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ДЕФЕКТОВ ТКАНЕЙ

Сучков М.Ю.^{1,2}, Кузяева В.И.³, Кравчук К.С.⁶, Дроздова М.Г.^{2,4}, Сочилина А.В.^{2,3,4}, Акасов Р.А.^{2,3,4,5}, Егорова Т.В.², Хайдуков Е.В.^{2,3,4,5}, Генералова А.Н.^{3,4}

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва

²Московский педагогический государственный университет, Москва

³НИЦ "Курчатовский институт", Москва

⁴ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

⁵Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва

⁶Технологический институт сверхтвёрдых и новых углеродных материалов, Москва

max.suchkov3001@yandex.ru

Тканеинженерные конструкции на основе гидрогелей из эндогенных полимеров с использованием мезенхимальных стволовых клеток (МСК) представляют собой перспективный материал для восстановления тканей, в том числе костных дефектов. При этом одна из наиболее важных задач - обеспечение возможности для роста клеток в объеме гидрогеля. В данном исследовании была разработана методика создания двухслойных гидрогелей на основе гиалуроновой кислоты, модифицированной глицидилметакрилатом, методом УФ-отверждения. Нижний слой гидрогеля служит подложкой, обеспечивающей твердость конструкции, в то время как верхний более рыхлый слой подвергается более быстрой биodeградации. В объеме верхнего гидрогелевого слоя вводили МСК - как в виде одиночных клеток, так и в виде предварительно сформированных мультиклеточных сфероидов; для оценки жизнеспособности клеток использовали окрашивание красителями МТТ и Calcein AM. Было показано, что одиночные клетки быстро (в течение 2-3 дней) погибали, в то время как сфероиды сохраняли свою жизнеспособность в течение 2 недель инкубации и были способны колонизировать прилегающий объем геля. Использование сфероидов для заселения гидрогелей может быть предложено для дальнейшего исследования *in vivo*.

Работа выполнена в рамках темы госзадания Министерства просвещения РФ № 122122600055-2.

9.54. ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ И ЦИТОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ДИАМИДОВ И АМИДОЭФИРОВ ЩАВЕЛЕВОЙ КИСЛОТЫ

*Терновая Н.Д.¹, Лифинцева А.А.¹, Калистратова А.В.¹, Ощепков М.С.¹,
Акимов М.Г.²*

¹Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева,
Москва

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

В 2022 г., по данным Всемирной организации здравоохранения, в мире было зарегистрировано 20 млн новых случаев рака и 9,7 млн случаев смерти от онкологических заболеваний, и поэтому в настоящее время разработка эффективных противораковых препаратов остается актуальной. Известно, что производные диамидов и амидоэфиров щавелевой кислоты обладают противораковой активностью. В связи с этим был проведен анализ влияния ряда новых соединений данной группы, замещенных по амидной группе с одной стороны и N-карбамоилэтиламидной с другой стороны оксамидного остова, на пролиферацию опухолевых клеток различного гистологического происхождения.

Для оценки влияния веществ были использованы человеческие опухолевые линии рака молочной железы MDA-MB-231, глиобластомы U-87 MG, рака поджелудочной железы Panc1 и нейробластомы SH-SY5Y. После добавления веществ инкубация клеток проводилась 72 часа. Жизнеспособность клеток определялась посредством ресазуринового теста, а также при помощи прямого подсчета клеток.

Была оценена цитотоксическая активность 8 диамидов и амидоэфиров щавелевой кислоты с этиловыми, пирролидоновыми морфолиновыми, 4-метилфельнильными и 4-хлорфенильными заместителями. Для одного из соединений, содержащего два этиловых заместителя по амидному концу и 4-хлорфенильный - по N-карбаматному, была обнаружена антипролиферативная активность с EC₅₀ порядка 25 мкМ.

Кроме того, была оценена активность соединений в цитопротекторных моделях химической гипоксии и оксидативного стресса на линии нейробластомы SH-SY5Y.

Полученные данные представляют интерес для дальнейшего изучения противораковой активности диамидов и амидоэфиров щавелевой кислоты.

Работа поддержана грантом РФФ № 22-73-10076.

9.55. РАЗРАБОТКА МЕТОДА ВЫДЕЛЕНИЯ АУТОАНТИТЕЛ ПРОТИВ ИНСУЛИНА В МИКРОМАСШТАБЕ С ПОМОЩЬЮ АФФИННОГО ЗАХВАТА НА БИОЧИПЕ

Трухин Д.С., Савватеева Е.Н.

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва
trukhin.ds@phystech.edu

Доступный метод выделения аутоантител (аутоАТ) из сыворотки крови необходим для их детальной характеристики. Предполагается, что белки патогенов могут вызывать образование аутореактивных антител за счёт коротких схожих областей с белками хозяина (молекулярная мимикрия). В случае сахарного диабета 1 типа (СД1), среди ряда аутоАТ к различным антигенам β -клеток поджелудочной железы, именно аутоАТ к инсулину представляют особый интерес для исследования потенциальных кросс-реактивных взаимодействий с белками патогенов, поскольку в детском возрасте, как правило, аутоАТ к инсулину появляются одними из первых и могут быть выявлены за годы до дебюта СД1. Для выделения индивидуальных аутоАТ из сложных биологических смесей может быть использован подход, основанный на взаимодействиях между белком и специфическим лигандом, иммобилизованным в трехмерных гидрогелевых элементах биочипа. Целью данной работы является разработка метода выделения аутоантител против инсулина из образцов сывороток крови пациентов с СД1 для изучения их кросс-реактивности с другими белками.

Гидрогелевые биочипы с иммобилизованным инсулином и контрольными зондами изготавливали по стандартной процедуре. Процедуру иммуноанализа с образованием бинарных комплексов "иммобилизованный инсулин - антитело" в элементах биочипа выполняли согласно описанному ранее протоколу. Оптимизацию условий элюирования для иммуноаффинной очистки антител проводили с использованием флуоресцентно-меченых моноклональных антител к инсулину. Было исследовано влияние состава различных элюентов (стандартные кислые условия, слабощелочной буфер, буфер с высокой ионной силой, различные детергенты, комплексные элюенты), а также зависимости эффективности извлечения антител из комплекса с иммобилизованным лигандом от времени и температуры элюции.

Выполнена оптимизация условий элюции после аффинного захвата на биочипе антител против инсулина с сохранением их биологической активности. Эффективность элюции при использовании в качестве элюента 3% водного раствора лауроилглутамата натрия составила 78,7%. Предложена процедура восстановления выделенного белка для получения его активной формы, специфически связывающейся с лигандом. Для разработанного протокола было показано сохранение 78,3% активности элюата специфических антител при повторном анализе на биочипе.

9.56. АНТИГЛИКАНОВЫЕ АНТИТЕЛА КОШЕК КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ

Чекирева М.Е.¹, Полякова С.М.², Нокель А.Ю.³, Бовин Н.В.⁴, Шилова Н.В.⁴

¹Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва

²ООО Синтавр, Москва

³ООО Семиотик, Москва

⁴ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

mariaa.chekireva@yandex.ru

Лейкоз и лимфома являются одними из наиболее распространенных и опасных заболеваний среди домашних кошек. Болезнь часто маскируется под заболевания желудочно-кишечного тракта и различные воспалительные процессы. На данный момент отсутствуют качественные диагностические системы для раннего выявления этих заболеваний, что затрудняет своевременное лечение и ухудшает прогноз для животных.

Для человека было показано, что онкологические заболевания вызывают значимые изменения в уровнях антигликановых антител (АГАТ) крови, имеющие хорошую диагностическую и прогностическую ценности. У кошек эти процессы протекают подобным образом, однако, информация об антителах к гликанам практически отсутствует.

Используя гликоэрею, содержащий около 300 гликанов (иммобилизованных в формате гликочипа) было проведено исследование репертуаров АГАТ в крови 20 условно здоровых кошек и 21 кошек, имеющих подтвержденный диагноз лейкоз/лимфома. Установлено, что разнообразие антител к гликанам у кошек уступает таковому у человека, хотя есть и некоторое сходство (например, антитела к гликанам, имеющим бактериальное происхождение). Также оказалось, что репертуары антител больных и здоровых животных значительно отличались, что открывает новые перспективы в диагностике и прогнозе этих заболеваний.

9.57. ОЦЕНКА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ПАТОГЕНОВ В РАЗЛИЧНЫХ ГЕНЕРАЦИЯХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

Шалыпин С.С.^{1,2}, Портнов С.А.^{1,2}, Богородский А.О.³, Шевченко М.А.¹

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

²Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ", Москва

³Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный
Shalyapin956@mail.ru

Вместе с током воздуха в респираторный тракт человека попадают патогенные микрочастицы, среди которых споры гриба рода *Aspergillus*. Некоторые из них оседают на стенках бронхов, остальные достигают альвеолярного пространства. Оценка доли спор, ассоциированных с различными генерациями дыхательных путей, необходима для исследования механизмов элиминации спор из организма.

Цель данной работы заключается в оценке доли спор, ассоциированных с различными генерациями нижних дыхательных путей мыши.

Изображения спор гриба в оптически просветленной доле легкого мыши получали при помощи конфокального микроскопа Zeiss LSM780. Набор Z - проекций преобразовывали в трехмерное изображение при помощи программного обеспечения Imaris 9.8. Коррекцию изображения проводили при помощи программного обеспечения FIJI.

В Imaris при помощи функции "Surface" была построена поверхность дыхательного пути, споры гриба строили при помощи "Spots". С целью заполнения просвета дыхательных путей поверхность обрабатывали в FIJI при помощи функций "Dilate", "Fill holes" и "Erode". Далее (в Imaris) применяли подход разбиения поверхности на элементы размером 20 мкм. Элементы объединяли в группы, соответствующие различным генерациям дыхательного пути. С использованием фильтра "Intensity mean" в канале поверхности, споры делили на находящиеся вне и внутри поверхности. Среди последних с использованием того же принципа выделяли споры, ассоциированные с различными генерациями дыхательных путей.

Таким образом, был отработан подход, позволяющий проводить оценку распределения микрочастиц патогенов в различных регионах дыхательных путей. Подобный подход впоследствии также можно будет использовать для оценки биодоступности ингаляционных форм лекарственных препаратов.

9.58. ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА МАССОЙ 70 КДА В СРЕЗАХ ТКАНИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ HSP70[IN] И HSP70[EX] С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СПЕКТРОВ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ

Шарова С.О.¹, Литвинова В.В.¹, Белицкая Е.Д.², Залыгин А.В.³, Олейников В.А.²

¹Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ", Москва

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

³Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, Москва
scharova.sonja@yandex.ru

Белки теплового шока, или HSP - это группа соединений, которые могут быть использованы в различных областях клинической медицины: неврологии, фармакологии и онкологии. Чтобы получить более точные данные о содержании этих белков и их распределении в структурах центральной нервной системы, нужно изучить их концентрацию в разных отделах мозга трансгенных мышей. Эти мыши экспрессируют повышенные концентрации экзо- и эндогенного HSP.

Цель исследования - разработать метод определения и анализа содержания белков теплового шока массой 70 килодальтон в срезах ткани головного мозга трансгенных мышей с помощью классификации спектров комбинационного рассеяния. Для эксперимента отобрали девять мышей линии C57BL/6, которых разделили на три группы. В первую группу вошли мыши дикого типа, а во вторую и третью - трансгенные мыши со встроенной генетической кассетой, содержащей копии человеческого белка теплового шока. Этот белок секретируется в цитозоль и в интерстициальное пространство.

В исследовании использовали конфокальный рамановский микроскоп для измерения спектров комбинационного рассеяния света в срезах головного мозга. Спектры регистрировали из области первичной моторной коры и стриатума головного мозга, время накопления составляло 5 секунд, а длина волны возбуждения лазера - 633 нанометра.

Результат показал, что ткани мозга мышей значительно различаются в зависимости от типа и наличия гиперэкспрессии белка теплового шока и отлично дифференцируются представленными подходами статистической обработки данных.

9.59. HOW CAN ICE EMERGE AT 0°C AND WHAT DO SO STRUCTURALLY DIFFERENT ICE-BINDING PROTEINS DO?

Finkelstein A.V.^{1,2}, Melnik B.S.^{1,2}, Garbuzynskiy S.O.¹

¹Institute of Protein Research of the Russian Academy of Sciences, 142290 Pushchino, Moscow Region, Russia

²Biology Department of the Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia
afinkel@vega.protres.ru

Biosynthesis of ice-binding proteins is an important way of survival of various organisms at low temperatures. An examination of the freezing kinetics shows that (i) at small negative temperatures, the ice formation in bulk water takes enormous time and, therefore, can occur neither in lakes nor living bodies; (ii) ice nucleation at small negative temperatures requires some ice-bonding surfaces. These "ice-nucleating" surfaces can initiate the ice formation at virtually zero temperatures. Therefore, the main task of antifreeze proteins is not, as it was commonly believed, to bind to already formed ice crystals and stop their growth and/or recrystallization, but to bind to various "ice-nucleating" surfaces, screen them, and thereby completely prevent the ice formation. Accumulated data show an extreme diversity of structures of ice-binding proteins observed in nature. They vary from short peptides to huge protein-carbohydrate-lipid complexes on the membranes of living cells, and the diversity of their spatial structures is comparable to the diversity of all proteins in general. Even closely related organisms sometimes possess ice-binding proteins of completely different structures that independently evolved from different progenitors.

This work was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 21-14-00268).

References

1. Melnik B.S., Finkelstein A.V. Physical basis of functioning of antifreeze protein. *Mol. Biol. (Moscow)* 2022, 56, 297-305. <https://doi.org/10.1134/S002689332202008X>
2. Finkelstein A.V., Garbuzynskiy S.O., Melnik B.S. How Can Ice Emerge at 0°C? *Biomolecules*, 2022, 12, 981. <https://doi.org/10.3390/biom12070981>.
3. Melnik B.S., Glukhova K.A., Sokolova (Voronova) E.A., Balalaeva I.V., Garbuzynskiy S.O., Finkelstein A.V. Physics of Ice Nucleation and Antinucleation: Action of Ice Binding Proteins. *Biomolecules* 2024, 14, 54. <https://doi.org/10.3390/biom14010054>

КАК МОЖЕТ ВОЗНИКНУТЬ ЛЁД ПРИ 0°C И ЧТО ДЕЛАЮТ СТОЛЬ РАЗНЫЕ ПО СТРУКТУРЕ ЛЁД-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ?

Финкельштейн А.В.^{1,2}, Мельник Б.С.^{1,2}, Гарбузинский С.А.¹

¹Институт белка Российской академии наук, Пущино

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Биологический факультет, Москва
afinkel@vega.protres.ru

Биосинтез связывающих лёд белков - важный способ выживания различных организмов при низких температурах. Исследование кинетики замерзания показывает, что (1) при небольших отрицательных температурах образование льда в объеме воды занимает огромное время, и потому не может происходить ни в озерах, ни в живых организмах; (2) зарождения льда при небольших минусовых температурах требует каких-то лёд-связывающих поверхностей. Эти "зародышеобразующие" поверхности могут инициировать образование льда при практически нулевых температурах. Поэтому главная задача белков-антифризов заключается не в том, чтобы, как это обычно считалось, связываться с уже возникшими кристаллами льда и останавливать их рост и/или перекристаллизацию, а в том, чтобы связываться с различными "зародышеобразующими" поверхностями, экранировать их, и тем самым полностью предотвращать образование льда. Накопленные данные показывают экстремальное разнообразие структур лёд-связывающих белков, наблюдаемых в природе. Они варьируются от коротких пептидов до огромных белково-углеводно-липидных комплексов на мембранах живых клеток, а разнообразие их пространственных структур сравнимо с разнообразием таковых у всех вообще белков. Даже близкородственные организмы порой обладают совершенно различными по структуре лёд-связывающими белками, независимо произошедшими от самых разных предшественников.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 21-14-00268).

Литература

1. Мельник Б.С., Финкельштейн А.В. Физический базис функционирования белка-антифриза. Мол. Биол. 2022, 56(2), 343-352. <https://doi.org/10.31857/S0026898422020112>
2. Finkelstein A.V., Garbuzynskiy S.O., Melnik B.S. How Can Ice Emerge at 0°C? *Biomolecules*, 2022, 12, 981. <https://doi.org/10.3390/biom12070981>.
3. Melnik B.S., Glukhova K.A., Sokolova (Voronova) E.A., Balalaeva I.V., Garbuzynskiy S.O., Finkelstein A.V. Physics of Ice Nucleation and Antinucleation: Action of Ice Binding Proteins. *Biomolecules* 2024, 14, 54. <https://doi.org/10.3390/biom14010054>

9.60. ИССЛЕДОВАНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ В МОДУЛЯЦИИ ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ ИНФЕКЦИИ *Mycobacterium abscessus*

Фомичева Ю.С., Григоров А.С., Скворцова Ю.В., Мартини Б.А., Салина Е.Г., Ажжикина Т.Л., Быченко О.С.

ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М.
Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
yulia.s.fomicheva@gmail.com

Mycobacterium abscessus относится к нетуберкулезным быстрорастущим микобактериям (НТМ) и является оппортунистическим патогеном, вторым по распространенности возбудителем пневмонии среди НТМ. Лечение инфекций, вызванных *M. abscessus*, затруднительно ввиду его естественной устойчивости ко многим видам антибиотиков, в том числе противотуберкулезных. Иммуномодулирующая терапия является одним из многообещающих подходов к лечению, при этом защитные иммунные механизмы используются для усиления терапевтического эффекта антимикробных препаратов.

Инфекция внутриклеточными патогенными бактериями приводит к секреции макрофагами во внеклеточную среду везикул (мембранных структур среднего размера 250 нм), которые содержат молекулярные компоненты как фагоцитов, так и бактерий, и играют важную роль в регуляции процессов иммунной защиты. Изучение состава и иммуномодулирующих свойств везикул, образующихся при заражении макрофагов бактерией *M. abscessus*, исследование механизмов взаимодействия *M. abscessus* и компонентов иммунной защиты хозяина представляют собой важную научно-прикладную проблему. Данных о составе и свойствах везикул, секретируемых в процессе инфекции макрофагов *M. abscessus*, на настоящий момент нет, что послужило основанием для проведения данной работы.

В ходе настоящей работы получены и охарактеризованы везикулы, секретируемые макрофагами клеточной линии RAW264.7, инфицированными *Mycobacterium abscessus* 19977, и без инфекции. Полученными везикулами обработаны макрофаги RAW264.7, выделенная из образцов макрофагов тотальная РНК использована для высокопроизводительного секвенирования транскриптомов. В результате сравнительного анализа транскриптомов макрофагов, обработанных двумя типами везикул, обнаружены дифференциально экспрессирующиеся гены. Функциональный анализ выявил активацию TLR-опосредованного MyD88-зависимого пути, пути, опосредованного NOD-подобными рецепторами, подавление митохондриальных функций (синтез пуриновых нуклеозидов, синтез АТФ, окислительное фосфорилирование). Данные транскриптомного анализа свидетельствуют о наличии иммуномодулирующих свойств у везикул, секретирующихся инфицированными *Mycobacterium abscessus* макрофагами.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Абдуллина М.И.	88, 92, 95, 111	Богданова Ю.А.	48, 53, 60
Абдурахманова М.М.	86	Богородский А.О.	160, 172
Агбак Т.	20	Бормотова Е.А.	146
Адамс Д.Ж.	29	Бородин И.П.	119
Ажикина Т.Л.	176	Борщевский В.И.	160
Акасов Р.А.	124, 154, 168	Бочаров Е.В.	20
Акимов М.Г.	44, 169	Бочаров Э.В.	10, 19, 29
Акопян А.А.	120	Бочкова Ж.В.	23
Алексеев К.С.	59	Бочкова М.А.	91
Алексеева Л.Г.	79	Бояршин К.С.	89
Алексеева Н.А.	79	Браже Н.А.	23
Алексеевко И.В.	127	Бруттан М.В.	120
Аликова В.Д.	116	Букин Ю.С.	35
Алтухова Д.А.	89	Булаев А.Г.	97, 100
Андропова А.А.	45	Буреев П.А.	121
Антипова Н.В.	136, 153, 158, 163	Быченко О.С.	176
Антипова О.М.	51, 57, 64	Бычкова А.В.	88, 92, 95, 111
Антонова А.О.	90	Вавилова Ю.Д.	73, 79
Аржанов А.И.	129	Вараксина Т.Ю.	122
Аргыкова А.В.	97	Варижук И.В.	130
Артюхов А.А.	135	Василевский А.А.	29
Ахмедзянов М.А.	5	Васильева Н.А.	82
Бабкова Ю.С.	117, 148, 164	Васильчикова Е.А.	131
Багров Д.В.	166	Величко Н.С.	105
Баженов С.В.	26	Вересова М.С.	92
Баклаушев В.П.	165	Веселов М.М.	126
Баранов М.С.	48, 53, 60	Ветровой О.В.	137, 161
Бардина М.В.	36	Виноградова Е.А.	47
Батенькин М.А.	131	Витковская Е.В.	83
Батлуцкая И.В.	89	Владимиров И.С.	31
Батчаева Б.Б.	88, 92	Власов А.В.	26
Бедерина Е.Л.	165	Водовозова Е.Л.	93
Безуглов В.В.	44	Волкова М.В.	123
Белецкая П.Д.	46	Вологжанникова А.А.	116
Белицкая Е.Д.	62, 152, 173	Волостных М.В.	124
Белогуров А.А.	7, 21, 78, 119	Волчок А.А.	124
Беляев Я.Б.	164	Воробьева Н.Е.	34
Берёзов А.Ю.	118	Воронкова В.В.	42
Берзина М.Я.	113	Габибов А.Г.	14, 70, 76, 167
Билан Д.С.	85	Гавриленкова А.А.	10, 19
Билова Т.Е.	37, 40	Гайсин К.Ш.	93
Бирюкова М.И.	88	Гамбург Е.В.	125
Биттер В.	13	Гарбузинский С.А.	175
Блинова А.Р.	6	Гасанов Р.Р.	123
Бобров Н.В.	141	Гаспарян М.Э.	28
Бовин Н.В.	41, 74, 171	Гасса М.	67
Богданов А.М.	16	Генералова А.Н.	124, 129, 150, 154, 168
Богданов И.В.	18, 27, 66, 69, 99		
Богданова А.С.	66	Гетте М.С.	26

Гилева А.М.	151	Дроздов С.А.	38
Гильванов А.Р.	48	Дроздова М.Г.	126, 135, 168
Гладкая А.Н.	68	Дружкова И.Н.	143
Гладких Д.А.	126, 135	Дубовик А.С.	46, 87
Гладнева Е.Е.	94	Дукат А.М.	96
Глушак Р.А.	127	Душина А.О.	129
Глушков А.А.	123	Дьяченко И.А.	9, 22
Гольцварт Е.П.	128	Дюбарь А.М.	97
Гондаренко Е.А.	82	Евпак А.С.	119
Горбунова М.И.	127	Егоров С.А.	123
Горелик Л.В.	117	Егорова В.С.	149
Горин Д.А.	162	Егорова Т.В.	129, 168
Горобец М.Г.	88, 92, 95, 111	Елагин В.В.	121
Горшкова Т.А.	39	Елкина Ю.А.	97
Градова М.А.	111	Ельмеева О.С.	7
Грецкая Н.М.	44, 104	Еремин П.С.	123
Григоренко Б.Л.	6	Ерёмин С.А.	57
Григоров А.С.	176	Ермакова П.С.	131
Гроза Н.В.	42	Ермолаева А.Н.	130
Грязева Е.Д.	31	Ермолаева Е.А.	71
Грязнова О.Ю.	125, 162	Ермолаева Е.О.	72
Гугля Е.Б.	47	Ефимова А.А.	98
Гузенков Д.С.	157	Ефремов Р.Г.	11
Гупалова Т.В.	146	Ештукова-Щеглова Е.А.	43
Гурина А.К.	37, 40	Жарова П.М.	131
Гусакова М.С.	120	Жердев А.В.	103
Гусев Н.Б.	8	Жихрева А.В.	132
Гуськов А.	13	Жукова Л.Г.	127
Гущин И.Ю.	15	Заболотский А.И.	8
Данилова Ю.Д.	69	Загайнова Е.В.	131, 141
Даниэль В.В.	120	Заика Е.А.	73
Деев И.Е.	10, 19	Залыгин А.В.	55, 62, 152, 173
Деев С.М.	117, 122, 125, 128, 147, 159, 162, 164	Замотина М.А.	8
Деев Я.А.	29	Захарова М.Н.	70
Демина П.А.	124, 154	Захарова М.Ю.	72, 77, 167
Дербигов Д.Д.	109	Зверева С.Д.	112
Дергоусова Н.И.	17	Звягин А.В.	122
Деревянко А.О.	106	Зеленова Е.А.	31, 120
Дерюшева Е.И.	116	Зелепукин И.В.	117, 148, 164
Дешева Ю.А.	146, 157	Зиганшин Р.Х.	34, 77
Джелад С.С.	70, 80	Зиганшина С.Е.	145
Джуманиязова И.Х.	120	Зимин К.А.	133
Дзангиев Б.Б.	103	Золотарева А.С.	50
Дзариева Ф.М.	51, 64	Золотцев В.А.	111
Дидыч Д.А.	127	Зорина Е.А.	98
Димитрева В.А.	55	Зорохович Д.А.	134
Долгих Д.А.	23	Зырина А.Н.	71
Дорошенко В.А.	49, 63	Иванкова Т.Д.	45
Дреничев М.С.	59	Иванов А.О.	156
		Иванов Б.М.	51, 64

Иванов Д.С.	52	Колосов А.В.	97, 100
Иванов М.В.	120	Колотаев А.В.	111
Иванов С.В.	71	Кольченко А.М.	129
Иванова А.Д.	135	Комаревцев С.К.	30, 110
Иванова Е.И.	136	Комарова А.Д.	143
Иванова Ю.С.	83	Комедчикова Е.Н.	90, 134, 144
Иванцова П.М.	90	Кондратьева С.А.	127
Иванюк М.А.	127	Конкина М.А.	59
Ивин Ю.Ю.	106	Коновалова Е.А.	145
Игнатова Н.И.	121	Константинова И.Д.	113
Ильиных А.А.	88	Коптева О.С.	146
Ионин А.В.	99	Копылов А.М.	51, 57, 64
Исаков Д.В.	108	Копылов А.С.	101
Исаков И.Э.	137	Копылова Н.В.	157
Исакова А.А.	28	Кормщицова Е.С.	145
Исмаилова А.М.	9, 22	Короткова Н.А.	147
Ишина И.А.	72, 77	Коряковцева А.А.	101
Казаков О.В.	84	Костанова Е.А.	88
Калганова А.И.	63, 138, 139	Котельникова П.А.	128, 147, 159
Калганова Н.В.	37	Кравчук К.С.	168
Калганова Н.И.	49	Краевой С.А.	120
Калинина Е.Н.	145	Краснова С.А.	53
Калистратова А.В.	169	Кривошеина Д.А.	10, 19
Камионская А.М.	40	Критченков И.С.	143
Каплин В.С.	101	Крюкова Е.В.	84
Карабут М.М.	141	Крючков Д.Ю.	148
Катичева А.Э.	32	Куданов Я.В.	156
Катруха В.А.	85	Куджаев А.М.	47
Качаев З.М.	67	Кудрявцев Д.С.	75, 82
Кашаев Г.А.	139	Кудряева А.А.	7, 21, 78
Кашина А.В.	131	Кудрякова Г.Х.	45, 54, 56
Каштанова Д.А.	120	Кузина М.С.	105
Каюшин А.Л.	98	Кузнецова А.Б.	149
Кильдеева Н.Р.	126	Кузнецова Д.С.	141
Кирсанов К.И.	133	Кузьменков А.И.	29
Киселева Е.Б.	165	Кузьмин Д.А.	141
Кисиль О.В.	45, 54, 56	Кузяева В.И.	150, 168
Китайцев А.А.	140	Куклин А.И.	26
Клячко Н.Л.	126	Куковякина Е.В.	28, 151
Кобызева П.А.	31	Куликова Д.И.	151
Ковалевский Я.Б.	123	Курбацкая И.Н.	72, 76, 77
Коваленко В.Л.	61	Кусков А.Н.	151
Коваленко Е.И.	73, 79, 81	Кутуков Р.Р.	102
Кожина Е.В.	45, 54, 56	Лазарев И.В.	11
Козлов Д.С.	141	Лапшинов Н.Э.	103
Козлова А.А.	59	Лашина Е.А.	104
Козлова В.А.	141	Лебедева Е.С.	54
Козловская Л.И.	71	Леванович В.В.	142
Кокаева З.Г.	118	Левашов П.А.	30
Колесникова О.А.	90, 134, 142, 144	Левшин И.Б.	45, 54, 56

Леонова Т.С.	37	Машуров С.Д.	55
Леонтьева А.А.	86	Меламуд В.С.	97, 100
Леонтьева Г.Ф.	146	Меликов Р.О.	91
Лесовой Д.М.	20	Мельник Б.С.	175
Липатников А.Д.	74	Мельникова Д.Н.	18
Липатов Н.Н.	105	Микулинская Г.В.	107
Липенский В.М.	38	Микшина П.В.	39
Литвиненко А.В.	91	Мирзоева Н.З.	14
Литвинова В.В.	152, 173	Миркасымов А.Б.	122, 125, 128, 164
Литус Е.А.	116	Миронов И.В.	56
Лифинцева А.А.	169	Мирошников К.А.	30, 110
Лобанов В.	13	Митрофанов С.И.	120
Логвиненко Е.А.	12	Михайленко А.Д.	75
Ломакин Я.А.	70, 80	Михайлова А.А.	39
Лубова К.	13	Можеров А.М.	165
Лузина О.А.	19	Моисеенко В.Л.	57, 64
Лукьянова А.А.	110	Мокрушина Ю.А.	14
Лунев Е.А.	36	Моргунов Н.А.	156
Лунин А.С.	71	Муранова Л.К.	8
Лушпа В.В.	29	Мухаметова Л.И.	57
Лылова Е.С.	133	Наводкина Е.С.	108
Люблинская О.Г.	83	Натаров И.И.	15
Мазур Д.В.	136, 153, 163	Некрасова А.И.	120
Мазур Д.М.	158	Некрасова О.В.	84
Майоров И.В.	156	Немашкалова Е.Л.	116
Майорова И.В.	157	Нефёдова Л.Н.	118
Майорова О.А.	88	Нечаева А.В.	97
Макаренко В.Ю.	152	Нечаева А.М.	76
Макаров В.	13	Никитин В.А.	16
Макаров В.В.	31, 120	Никитин М.П.	91
Макарюк А.М.	16	Никитин П.И.	164
Максимов Г.В.	23	Николаева М.Е.	154
Максимов Е.Г.	48	Никонова А.В.	77
Максимова В.П.	133	Нокель А.Ю.	171
Мамедов А.Э.	76	Нуштаева А.А.	86
Мамонтова А.В.	16	Обозина А.С.	144, 155
Мамчур А.А.	120	Овчинникова Л.А.	70, 80
Манухов И.В.	26	Овчинникова Т.В.	18, 24, 25, 27, 66, 69, 99
Маргарит А.А.	40	Олейников В.А.	55, 62, 152, 173
Марданов А.В.	97	Опрышко В.Е.	58
Маренкова Е.А.	47	Орехов В.И.	20
Марквичева Е.А.	126, 135, 151	Орехова Е.С.	106
Маркелова Н.Н.	54	Орлов А.С.	109
Марков П.А.	123	Орлова А.А.	37, 40
Маргини Б.А.	176	Орлова Д.А.	78
Мартиросян Л.Ю.	106	Ощепков М.С.	169
Маслакова А.А.	166	Павлова Г.В.	51, 57, 64
Маслов М.А.	38, 43	Пантелеев П.В.	24, 25
Магшинцев А.В.	107	Першикова Е.Р.	156
Машукова А.В.	87		

Петрачкова Д.С.	157	Самойленкова Н.С.	51
Петров В.А.	156	Саратов Г.А.	7, 21
Петрова К.В.	130	Сафенкова И.В.	103
Петросян Э.Г.	158	Сафонова Е.А.	150
Петунина Ж.В.	35	Сафронова В.Н.	24, 25
Пипия С.О.	14, 138	Сачкова Д.А.	165
Платов Д.А.	59	Светлакова А.В.	61, 65, 90
Подоляко В.В.	159	Северюхина М.С.	9, 22
Полякова С.М.	74, 171	Семашко Т.А.	32
Попкова А.Н.	17	Семенов О.Ю.	15
Попов В.О.	17	Семенова М.А.	23
Портнов С.А.	160, 172	Сергеева А.Д.	85
Потапов А.Е.	18	Серова Т.Д.	33
Потапова С.С.	137, 161	Сигида Е.Н.	105
Похоруков Д.А.	162	Сидорова А.Е.	166
Пронин И.Н.	64	Сизиков А.А.	61, 65, 155
Простякова А.И.	140, 150	Силинская С.А.	37, 40
Прохоренко И.А.	45, 54, 56	Симанив Т.О.	70
Прошкин С.А.	33	Симонов А.Ю.	45, 54, 56
Прусаков К.А.	166	Синёва О.Н.	45, 54
Пуговкина Н.А.	83	Сиразова Д.И.	71
Пучков П.А.	43	Скакунова Т.Ю.	123
Пяткина В.А.	10, 19	Скворцова Ю.В.	176
Радион Е.И.	31	Слотбюм Д.	13
Ракитина О.А.	127	Смирнов А.Ю.	52, 58
Ракитина Т.В.	7	Смирнов И.В.	14, 138
Резекина А.И.	163	Смирнова Е.В.	7
Рекстин А.Р.	157	Смирнова О.М.	23
Ремеева А.А.	15	Смолина А.А.	24, 25
Рижиков Ю.Л.	26	Соболева А.В.	40
Рогожин Е.А.	5	Согомонян А.С.	125, 128
Родимова С.А.	141	Соколов В.В.	56
Родионов В.И.	164	Соколова М.С.	41
Розанцева В.В.	109	Соколовский Д.С.	157
Романова Е.В.	35	Соловьев Я.В.	119
Росина Е.В.	145	Соловьева А.Б.	101
Рошин К.Д.	20	Сочилина А.В.	150, 168
Рудик Д.И.	60	Спир А.	13
Румянцева А.М.	120	Стасова В.А.	167
Ручкин Д.А.	16	Степаненко В.Н.	107
Рыбина А.А.	57	Степанов М.Е.	129
Рыжов И.М.	41	Стинская К.Б.	62
Рязанцев Д.Ю.	102	Стражеско И.Д.	120
Савватеева Е.Н.	170	Стратилов В.А.	137, 161
Савельев А.Г.	150	Суворов А.Н.	146
Савченко Е.А.	64	Сударев В.В.	26
Савченко И.М.	36	Сухова М.В.	127
Садыкова В.С.	56	Сучков М.Ю.	168
Сажнев Н.А.	126	Сыровой А.С.	49, 63
Салина Е.Г.	176	Тараскина А.М.	42

Тепловодская Ю.С.	24, 25	Чесноков С.А.	131
Терехов М.В.	120	Чупахин Е.Г.	132
Терехов С.С.	14, 49, 63, 138, 139	Ш аляпин С.С.	160, 172
Терновая Н.Д.	169	Шарова С.О.	152, 173
Тилинова О.М.	26	Швыдкий В.О.	46, 87
Тимофеев Э.Н.	130	Шевелёва М.П.	116
Тихонова Т.В.	17	Шевченко М.А.	68, 160, 172
Ткачева О.Н.	120	Шевченко О.В.	27
Токмакова А.Д.	110	Шемет Е.Ю.	113
Толстова Т.В.	126	Шереметьева М.Е.	109
Торопцева А.В.	88, 92, 95, 111	Шерстяных Г.Д.	44
Трофимов Ю.А.	11	Шидловский Ю.В.	67
Трухин Д.С.	170	Шилова Н.В.	74, 171
Туник С.П.	143	Шиманская Я.О.	65
У ласова Н.Ю.	31	Шипков Н.С.	17
Усвалиев А.Д.	126	Шипунова В.О.	50, 61, 65, 90, 96, 112, 114, 115, 134, 142, 144, 155
Устюжанина М.О.	73, 81		
Уткин Ю.Н.	9, 22	Ширманова М.В.	143, 165
Ф айзуллин А.Л.	122	Шишкина Л.Н.	46, 87
Федоненко Ю.П.	105	Шишова А.А.	71
Феофанов А.В.	84	Шмелёва О.А.	71
Филиппова Ю.А.	62	Шмендель Е.В.	38, 43
Филоненко Д.А.	127	Шмидт А.А.	36
Финкельштейн А.В.	175	Шокодько И.А.	34
Финкина Е.И.	27, 69, 99	Шумилина Ю.С.	37
Финол-Урданета Р.К.	29	Ш ербаков Д.Ю.	35
Фокина А.А.	43	Щеславский В.И.	143, 165
Фоменко А.Н.	79	Щечкин И.Д.	141
Фомичева Ю.С.	176	Ю ань Ц.	28
Фролов А.А.	37, 40	Юдин В.С.	120
Фуртак Е.Д.	112	Юдин С.М.	120
Х абибуллин Н.Р.	106	Юдинцева А.В.	35
Хабян Э.	13	Южакова Д.В.	165
Хадур Н.	44	Юнусова В.А.	29
Хазеев С.Н.	80	Юрченко М.А.	96, 134
Хайдуков Е.В.	124, 129, 154, 168	Юрьева А.М.	115, 155
Хайдуков К.В.	124, 154	Юсеф А.	36
Хариту В.	13	Юсубалиева Г.М.	165
Хачатрян Д.С.	111	Я голович А.В.	28, 151
Хвостов М.В.	19	Якимов А.Ю.	30
Храмова Ю.В.	85	Яковчик А.Ю.	120
Ч екирева М.Е.	171	Якубовская М.Г.	133
Чепанов С.В.	74	Якупова Р.Д.	106
Черевацкая М.А.	37, 40	Яненко А.С.	109
Черепанов И.А.	37	Яшин К.С.	165
Чернов А.С.	78, 102	F inkelstein A.V.	174
Чернышов С.В.	107	G arbuzynskiy S.O.	174
Черткова А.А.	73, 81	M elnik B.S.	174
Черткова Р.В.	23		

СОДЕРЖАНИЕ

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

СЕКЦИЯ 1

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ПЕПТИДОВ И БЕЛКОВ. БИОКАТАЛИЗ

- 1.1. СРАВНЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ СТРУКТУР ЗАЩИТНЫХ ПЕПТИДОВ РАСТЕНИЙ - АЛЬФА-ХАРПИНИНОВ - КАК ОСНОВА ВЫЯВЛЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ДЕТЕРМИНАНТ
Ахмедзянов М.А., Рогожин Е.А. 5
- 1.2. БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ЛЮЦИФЕРАЗЫ СВЕТЛЯЧКА: МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ ФОСФОРЕСЦЕНЦИИ
Блинова А.Р., Григоренко Б.Л. 6
- 1.3. ОСНОВНОЙ БЕЛОК МИЕЛИНА РЕГУЛИРУЕТ ТРАНСПОРТ ИНТЕГРАЛЬНОГО ТРАНСМЕМБРАННОГО БЕЛКА 2В
Ельмеева О.С., Смирнова Е.В., Ракитина Т.В., Кудряева А.А., Саратов Г.А., Белогуров А.А. 7
- 1.4. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МАЛЫХ БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА ЧЕЛОВЕКА С АДАПТЕРНЫМ БЕЛКОМ BAG3
Замотина М.А., Муранова Л.К., Заболотский А.И., Гусев Н.Б. 8
- 1.5. НЕ ОБЛАДАЮЩАЯ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТЬЮ СУБЪЕДИНИЦА NDR-1_h ФОСФОЛИПАЗЫ A2 NDR-1 НЕ ВЛИЯЕТ НА ГЕМОДИНАМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРЫС ПРИ ВНУТРИВЕННОМ ВВЕДЕНИИ
Исмаилова А.М., Северюхина М.С., Дьяченко И.А., Уткин Ю.Н. 9
- 1.6. ПОИСК АМИНОКИСЛОТНЫХ ОСТАТКОВ ВОВЛЕЧЕННЫХ В рН-ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ РЕЦЕПТОРНОЙ ТИРОЗИНКИНАЗЫ РЕЦЕПТОРА, ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРУ ИНСУЛИНА (IRR)
Кривошеина Д.А., Гавриленкова А.А., Пяткина В.А., Бочаров Э.В., Деев И.Е. 10
- 1.7. КОМПЕНСАТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ МЕЖМОЛЕКУЛЯРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В ПОРОВОМ ДОМЕНЕ ИОННЫХ КАНАЛОВ TRPV В ОСНОВНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯХ
Лазарев И.В., Трофимов Ю.А., Ефремов Р.Г. 11
- 1.8. ИЗМЕРЕНИЕ КОНСТАНТЫ ДИССОЦИАЦИИ КОМПЛЕКСА АНТИГЕН-АНТИТЕЛО
Логвиненко Е.А. 12
- 1.9. ОТ МОЛЕКУЛЫ К МИШЕНИ: АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ ПОДХОД В БОРЬБЕ С ТУБЕРКУЛЁЗОМ НА ПРИМЕРЕ ОДНОЙ ИСТОРИИ
Лубова К., Хабян Э., Хариту В., Лобанов В., Спир А., Макаров В., Гуськов А., Биттер В., Слотбом Д. 13
- 1.10. СОЗДАНИЕ ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНАЛОГОВ ЛАНТИПЕПТИДОВ
Мирзоева Н.З., Пития С.О., Мокрушина Ю.А., Габибов А.Г., Смирнов И.В., Терехов С.С. 14

- 1.11. ВЛИЯНИЕ СРЕДЫ НА ФОТОФИЗИКУ LOV-ДОМЕНА ИЗ ТЕРМОФИЛЬНОЙ ГАЛОАРХЕИ
Натаров И.И., Семенов О.Ю., Ремеева А.А., Гуцин И.Ю. 15
- 1.12. ВЛИЯНИЕ ПЕРВОЙ АМИНОКИСЛОТЫ ХРОМОФОРНОЙ ТРИАДЫ НА ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СИНИХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ БЕЛКОВ С ИЗБРАННЫМИ ХРОМОФОРНЫМИ КОМПОЗИЦИЯМИ
Никитин В.А., Ручкин Д.А., Макарюк А.М., Мамонтова А.В., Богданов А.М. 16
- 1.13. ОБРАЗОВАНИЕ И СВОЙСТВА КОМПЛЕКСА ТИОЦИАНАТДИДРОГЕНАЗЫ С ТИОРЕДОКСИН-ПОДОБНЫМ БЕЛКОМ ИЗ *Thiohalobacter thiocyanaticus*
Попкова А.Н., Шипков Н.С., Дергоусова Н.И., Тихонова Т.В., Попов В.О. 17
- 1.14. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ОСНОВНОГО АЛЛЕРГЕНА ПЫЛЬЦЫ ОЛЬХИ *Aln g 1* С СУРФАКТАНТНЫМ СЛОЕМ И ЭПИТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ ЛЕГКИХ
Потапов А.Е., Мельникова Д.Н., Овчинникова Т.В., Богданов И.В. ... 18
- 1.15. ВЛИЯНИЕ ХИМИЧЕСКИХ МОДИФИКАЦИЙ БЕРБЕРИНА НА АКТИВАЦИЮ РЕЦЕПТОРА ИНСУЛИНА
Пяткина В.А., Кривошеина Д.А., Гавриленкова А.А., Хвостов М.В., Лузина О.А., Бочаров Э.В., Деев И.Е. 19
- 1.16. ПОИСК И АНАЛИЗ КАТАЛИТИЧЕСКИХ ЦЕНТРОВ БЕЛКА MALT1 НА ОСНОВАНИИ СТРУКТУРНО-ДИНАМИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ ВЫСОКОЙ ТОЧНОСТИ
Роцин К.Д., Лесовой Д.М., Бочаров Е.В., Азбак Т., Орехов В.И. 20
- 1.17. ОСНОВНОЙ БЕЛОК МИЕЛИНА НЕЙТРАЛИЗУЕТ ИНГИБИРОВАНИЕ АУТОФАГИИ, ВЫЗВАННОЕ БЕЛКОМ ORF3a ВИРУСА SARS-CoV-2
Саратов Г.А., Белогуров А.А., Кудряева А.А. 21
- 1.18. ФЕРМЕНТАТИВНО АКТИВНАЯ СУБЪЕДИНИЦА ГЕТЕРОДИМЕРНОЙ ФОСФОЛИПАЗЫ A2 HDP-1 СНИЖАЕТ АРТЕРИАЛЬНОЕ ДАВЛЕНИЕ У КРЫС ПРИ ВНУТРИВЕННОМ ВВЕДЕНИИ
Северюхина М.С., Исмаилова А.М., Дьяченко И.А., Уткин Ю.Н. 22
- 1.19. РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕМСОДЕРЖАЩИХ БЕЛКОВ, СОПРОВОЖДАЮЩЕГОСЯ ПЕРЕНОСОМ ЭЛЕКТРОНА
Семенова М.А., Бочкова Ж.В., Смирнова О.М., Браже Н.А., Максимов Г.В., Долгих Д.А., Черткова Р.В. 23
- 1.20. ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ НОВЫХ ТАНАТИН-ПОДОБНЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ИЗ КЛОПА *Riptortus pedestris*
Смолина А.А., Тепловодская Ю.С., Сафронова В.Н., Овчинникова Т.В., Пантелеев П.В. 24
- 1.21. СКРИНИНГ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ β -ШПИЛЕЧНЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПОДОТРЯДА *Heteroptera*
Тепловодская Ю.С., Смолина А.А., Сафронова В.Н., Овчинникова Т.В., Пантелеев П.В. 25

- 1.22. СТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕТЕРООЛИГОМЕРОВ ФЕРРИТИНА МЕТОДОМ МАЛОУГЛОВОГО РАССЕЯНИЯ, СОВМЕЩЕННОГО С ГЕЛЬ-ФИЛЬТРАЦИОННОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ
Тилинова О.М., Гетте М.С., Сударев В.В., Рижиков Ю.Л., Баженов С.В., Манухов И.В., Куклин А.И., Власов А.В. 26
- 1.23. ДЕЙСТВИЕ ДЕФЕНСИНА NaD1 ПРОТИВ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ И РЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ *Candida albicans*
Шевченко О.В., Богданов И.В., Овчинникова Т.В., Финкина Е.И. 27
- 1.24. РАЗРАБОТКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ГИБРИДНОГО БЕЛКА, СПЕЦИФИЧНОГО К РЕЦЕПТОРАМ DR5 И FGFR1
Юань Ц., Исакова А.А., Куковьякина Е.В., Гаспарян М.Э., Яголович А.В. 28
- 1.25. УНИКАЛЬНЫЙ ТОКСИН ИЗ ЯДА ПАУКА *Pterinochilus murinus* БЛОКИРУЕТ ПОРУ ПОТЕНЦИАЛ-ЗАВИСИМЫХ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ
Юнусова В.А., Луша В.В., Деев Я.А., Бочаров Э.В., Финол-Урданета Р.К., Адамс Д.Ж., Кузьменков А.И., Василевский А.А. 29
- 1.26. ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ БАКТЕРИОФАГА *Curtobacterium* spp. АУКА
Якимов А.Ю., Комаревцев С.К., Левашов П.А., Мирошников К.А. ... 30

СЕКЦИЯ 2

ГЕНЫ И ГЕНОМЫ. МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ. ГЕНОМНОЕ РЕДАКТИРОВАНИЕ

- 2.1. CRISPRa КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ГЕНОМА НА ПРИМЕРЕ STLA4: АНАЛИЗ СПЕЦИФИЧНОСТИ И OFF-TARGET ЭФФЕКТОВ
Грязева Е.Д., Радион Е.И., Кобызева П.А., Зеленова Е.А., Уласова Н.Ю., Владимиров И.С., Макаров В.В. 31
- 2.2. ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ, СИНТЕЗИРОВАННЫХ НА МИКРОЧИПАХ, ДЛЯ СБОРКИ ДЛИННЫХ ФРАГМЕНТОВ ДНК
Катичева А.Э., Семашко Т.А. 32
- 2.3. КООРДИНАЦИЯ ТРАНСКРИПЦИИ С ПРОЦЕССИНГОМ И ДЕГРАДАЦИЕЙ РНК В *Escherichia coli*
Серова Т.Д., Прошкин С.А. 33
- 2.4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИЗОФОРМ-СПЕЦИФИЧНЫХ ПАРТНЕРОВ ЭКДИЗОНОВОГО РЕЦЕПТОРА В РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЯХ *Drosophila melanogaster* МЕТОДОМ ПРОКСИМАЛЬНОГО БИОТИНИЛИРОВАНИЯ
Шкодько И.А., Зиганин Р.Х., Воробьева Н.Е. 34
- 2.5. ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА ТРЕХ ВИДОВ БАЙКАЛЬСКИХ АМФИПОД
Юдинцева А.В., Букин Ю.С., Романова Е.В., Петунина Ж.В., Щербаков Д.Ю. 35
- 2.6. РАЗРАБОТКА УНИВЕРСАЛЬНОГО ПОДХОДА ДЛЯ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ GNAO1-ЭНЦЕФАЛОПАТИИ
Юсеф А., Лунев Е.А., Савченко И.М., Шмидт А.А., Бардина М.В. 36

СЕКЦИЯ 3

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ, УГЛЕВОДОВ И НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ

- 3.1. ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ СИДНОНИМИНОВ КАК МОДУЛЯТОРОВ ОТВЕТА РАСТЕНИЙ НА ДЕЙСТВИЕ ЗАСУХИ МЕТОДАМИ ВОТТОМ-UP ПРОТЕОМИКИ
Гурина А.К., Билова Т.Е., Черевацкая М.А., Леонова Т.С., Шумилина Ю.С., Орлова А.А., Силинская С.А., Черепанов И.А., Калганова Н.В., Фролов А.А. 37
- 3.2. РАЗРАБОТКА ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ПЕПТИД-СОДЕРЖАЩИХ ЛИПОКОНЪЮГАТОВ С ВИНИЛСУЛЬФОНОВЫМ ЛИНКЕРОМ
Дроздков С.А., Липенский В.М., Шмендель Е.В., Маслов М.А. 38
- 3.3. ПОИСК ЭНДОГЕННЫХ СУБСТРАТОВ ДЛЯ БИОСИНТЕЗА РАМНОГАЛАКТУРОНАНА I ВОЛОКОН ЛЬНА
Михайлова А.А., Горшкова Т.А., Микшина П.В. 39
- 3.4. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СИДНОНИМИНОВ НА РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В СЕМЕНАХ *Pisum sativum* L. В ОТВЕТ НА ЗАСУХУ
Силинская С.А., Маргарит А.А., Гурина А.К., Орлова А.А., Соболева А.В., Билова Т.Е., Каминская А.М., Черевацкая М.А., Фролов А.А. 40
- 3.5. ПОЛУЧЕНИЕ FSL-КОНСТРУКТОВ, СОДЕРЖАЩИХ ПЕНТАСАХАРИД GD2
Соколова М.С., Бовин Н.В., Рыжов И.М. 41
- 3.6. СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОНЪЮГАТОВ АРОМАТИЧЕСКИХ КИСЛОТ С ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ
Тараскина А.М., Воронкова В.В., Гроза Н.В. 42
- 3.7. ПОЛУЧЕНИЕ МАННОЗИЛИРОВАННЫХ АДРЕСНЫХ ЛИПОКОНЪЮГАТОВ ДЛЯ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ
Фокина А.А., Пучков П.А., Ештукова-Щеглова Е.А., Шмендель Е.В., Маслов М.А. 43
- 3.8. ВЛИЯНИЕ КОМБИНАЦИИ 2-АРАХНОДОИЛДИФТОРГЛИЦЕРОЛА И ЛИЗОФОСФАТИДИЛИНОЗИТОЛА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
Шерстяных Г.Д., Хадур Н., Грецкая Н.М., Акимов М.Г., Безуглов В.В. 44

СЕКЦИЯ 4

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

- 4.1. БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА ИЗ ГАЛОТОЛЕРАНТНОГО ШТАММА АКТИНОМИЦЕТА *Streptomyces* sp.: ОБНАРУЖЕНИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
Андропова А.А., Синёва О.Н., Кисиль О.В., Иванкова Т.Д., Прохоренко И.А., Кудрякова Г.Х., Кожина Е.В., Симонов А.Ю., Левшин И.Б. 45

- 4.2. ОЦЕНКА ВОЗМОЖНЫХ НЕГАТИВНЫХ ЭФФЕКТОВ ИОНОВ
МАРГАНЦА В НИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ
МЕМБРАНЫ
Белецкая П.Д., Дубовик А.С., Швыдкий В.О., Шишкина Л.Н. 46
- 4.3. ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ С
АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ШТАММА *Trichoderma*
virens MSU FS-01883
Виноградова Е.А., Маренкова Е.А., Куджаев А.М., Гугля Е.Б. 47
- 4.4. ПРИМЕНЕНИЕ ФЛУОРОГЕН-АКТИВИРУЮЩИХ БЕЛКОВ FAST ВО
ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ВРЕМЯ-РАЗРЕШЕННОЙ МИКРОСКОПИИ
ЖИВЫХ КЛЕТОК HeLa Kyoto
Гильванов А.Р., Богданова Ю.А., Максимов Е.Г., Баранов М.С. 48
- 4.5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ АНТИБИОТИКОВ И
АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ МЕТОДАМИ ПРОТОЧНОЙ
ЦИТОФЛУОРИМЕТРИИ
Дорошенко В.А., Сыровой А.С., Калганова Н.И., Терехов С.С. 49
- 4.6. РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ СИСТЕМНОЙ ДОСТАВКИ
НАНОФОРМУЛЯЦИЙ ДЛЯ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ МОЗГА
Золотарева А.С., Шипунова В.О. 50
- 4.7. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКИ С
ПОМОЩЬЮ АНТИ-EGFR АПТАМЕРОВ
*Иванов Б.М., Антипова О.М., Дзариева Ф.М., Самойленкова Н.С.,
Павлова Г.В., Копылов А.М.* 51
- 4.8. ПУШПУЛЬНЫЕ ЕНАМИНЫ - НОВЫЕ ПРОДУКТЫ В РЕАКЦИИ
1,5-ГИДРИДНОГО СДВИГА
Иванов Д.С., Смирнов А.Ю. 52
- 4.9. ДИЗАЙН НОВОЙ ГЕНЕТИЧЕСКИ-КОДИРУЕМОЙ ДАЛЬНЕ-КРАСНОЙ
ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МЕТКИ НА ОСНОВЕ БЕЛКА nano-frFAST
Краснова С.А., Богданова Ю.А., Баранов М.С. 53
- 4.10. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ
АКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ ИЗ ГАЛОТОЛЕРАНТНОГО ШТАММА
АКТИНОМИЦЕТА *Streptomyces* sp.
*Лебедева Е.С., Синёва О.Н., Кисиль О.В., Маркелова Н.Н.,
Прохоренко И.А., Кудрякова Г.Х., Кожина Е.В., Симонов А.Ю.,
Левшин И.Б.* 54
- 4.11. МОДЕЛИРОВАНИЕ САМОСБОРКИ НАНОЧАСТИЦЫ НА ОСНОВЕ
КОНСТРУКТА С γ -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ МЕТОДОМ
МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ
Машиуров С.Д., Димитрева В.А., Олейников В.А., Залыгин А.В. 55
- 4.12. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ
АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ПРОДУЦИРУЕМЫХ ШТАММОМ
ГРИБА *Emericella* sp.
*Мионов И.В., Соколов В.В., Кисиль О.В., Прохоренко И.А.,
Кудрякова Г.Х., Кожина Е.В., Симонов А.Ю., Левшин И.Б.,
Садыкова В.С.* 56

- 4.13. КОНСТРУИРОВАНИЕ ДНК-АПТАМЕРОВ К EGFR - ОНКОМАРКЕРУ ГЛИОМ
Моисеенко В.Л., Антипова О.М., Рыбина А.А., Мухаметова Л.И., Ерёмин С.А., Павлова Г.В., Копылов А.М. 57
- 4.14. СИНТЕЗ ГИДРОКСИХРОМАНОНОВ И БЕНЗОФУРАНОНОВ ИЗ ПРОИЗВОДНЫХ 2-(2-ФОРМИЛФЕНИЛОКСИ)УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ
Опрышко В.Е., Смирнов А.Ю. 58
- 4.15. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ И РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ СОЗДАНИЯ ГЛИКОЗИДНОЙ СВЯЗИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПУРИНОВ
Платов Д.А., Конкина М.А., Козлова А.А., Дреничев М.С., Алексеев К.С. 59
- 4.16. АРИЛИДЕН-ИМИДАЗОЛОНЫ С ТРЕМЯ ДОНОРНЫМИ ЗАМЕСТИТЕЛЯМИ КАК ФЛУОРОГЕННЫЕ КРАСИТЕЛИ ДЛЯ МЕЧЕНИЯ АДИПОСОМ
Рудик Д.И., Богданова Ю.А., Баранов М.С. 60
- 4.17. ТЕХНОЛОГИЯ СМФ-ЦИТОБЛОКАДЫ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ МАГНИТНО-ПОЛИМЕРНЫХ НАНОЧАСТИЦ
Светлакова А.В., Коваленко В.Л., Сизиков А.А., Шипунова В.О. 61
- 4.18. ПОДЛОЖКИ НА ОСНОВЕ СЕРЕБРЯНЫХ НАНОПРОВОЛОК ДЛЯ УСИЛЕНИЯ РАМАНОВСКИХ СПЕКТРОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ
Стинская К.Б., Белицкая Е.Д., Филиппова Ю.А., Залыгин А.В., Олейников В.А. 62
- 4.19. ПОДБОР СИСТЕМЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЛИЯНИЯ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ И АНТИБИОТИКОВ НА БАКТЕРИАЛЬНУЮ МЕМБРАНУ
Сыровой А.С., Дорошенко В.А., Калганова А.И., Терехов С.С. 63

СЕКЦИЯ 5

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УЗНАВАНИЯ БИОМОЛЕКУЛ И ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛОВ В КЛЕТКЕ

- 5.1. АНТИ-EGFR АПТАМЕР GR20: ОТ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ К ДОСТАВКЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО АГЕНТА В КЛЕТКИ ГЛИОБЛАСТОМЫ
Антипова О.М., Моисеенко В.Л., Иванов Б.М., Дзариева Ф.М., Савченко Е.А., Павлова Г.В., Пронин И.Н., Копылов А.М. 64
- 5.2. ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ АДРЕСНЫХ МАГНИТНЫХ НАНОАГЕНТОВ ДЛЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ С ПОМОЩЬЮ ТЕХНОЛОГИИ СМФ-ЦИТОБЛОКАДЫ
Шиманская Я.О., Светлакова А.В., Сизиков А.А., Шипунова В.О. 65

СЕКЦИЯ 6

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ ОСНОВЫ ИММУНИТЕТА

- 6.1. РАЗРАБОТКА МОДЕЛИ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ НА ОСНОВЕ КЛЕТОК КРЫСИНОГО БАЗОФИЛЬНОГО ЛЕЙКОЗА RBL-2H3
Богданова А.С., Овчинникова Т.В., Богданов И.В. 66

- 6.2. 20-ГИДРОКСИЭКДИЗОН МОДУЛИРУЕТ ИММУННЫЙ ОТВЕТ У *Drosophila*
Гасса М., Шидловский Ю.В., Качаев З.М. 67
- 6.3. ВЛИЯНИЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ НА ПРОЦЕНТ НЕЙТРОФИЛОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ МЫШИ
Гладкая А.Н., Шевченко М.А. 68
- 6.4. ОЦЕНКА ПЕРЕКРЕСТНОЙ РЕАКТИВНОСТИ Bet v 1 БЕРЕЗЫ И Gly m 4 СОИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЖИВОТНЫХ МОДЕЛЕЙ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ
Данилова Ю.Д., Богданов И.В., Овчинникова Т.В., Финкина Е.И. 69
- 6.5. ИЗУЧЕНИЕ РЕПЕРТУАРА КРОСС-РЕАКТИВНЫХ ВИРУС-СПЕЦИФИЧНЫХ В-ЛИМФОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ
Джелад С.С., Овчинникова Л.А., Симанив Т.О., Захарова М.Н., Габиров А.Г., Ломакин Я.А. 70
- 6.6. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МУТАЦИЙ В N-КОНЦЕВОМ ДОМЕНЕ ГЛИКОПРОТЕИНА Spike НА ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ И ИММУНОГЕННЫЕ СВОЙСТВА РАЗНЫХ ВАРИАНТОВ ВИРУСА SARS-CoV-2
Ермолаева Е.А., Зырина А.Н., Козловская Л.И., Сиразова Д.И., Лукин А.С., Иванов С.В., Шмельёва О.А., Шишова А.А. 71
- 6.7. ПОИСК НОВЫХ АУТОАНТИГЕНОВ ПРИ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ
Ермолаева Е.О., Курбацкая И.Н., Захарова М.Ю., Ишина И.А. 72
- 6.8. ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ РАЗЛИЧИЯ В УРОВНЕ АКТИВАЦИИ НК-КЛЕТОК ПОД ДЕЙСТВИЕМ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПЕПТИДОВ ПРЕДПОЛАГАЮТ НАЛИЧИЕ АНТИГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКОГО ОТВЕТА
Заика Е.А., Устюжанина М.О., Вавилова Ю.Д., Черткова А.А., Коваленко Е.И. 73
- 6.9. УГЛЕВОДНЫЕ КСЕНОАНТИГЕНЫ НА КЛЕТКАХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ
Липатников А.Д., Полякова С.М., Чепанов С.В., Бовин Н.В., Шилова Н.В. 74
- 6.10. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ АКТИВАЦИИ И ИНГИБИРОВАНИЯ ГАМКА-РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ВОСПАЛЕНИИ
Михайленко А.Д., Кудрявцев Д.С. 75
- 6.11. ВЫЯВЛЕНИЕ АУТОАНТИГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ
Нечаева А.М., Курбацкая И.Н., Мамедов А.Э., Габиров А.Г. 76
- 6.12. ОСОБЕННОСТИ ПРЕЗЕНТАЦИИ АНТИГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ, НА МНС II
Никонова А.В., Курбацкая И.Н., Зиганин Р.Х., Захарова М.Ю., Ишина И.А. 77

- 6.13. ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА У КРЫС ЛИНИЙ DA И SD
Орлова Д.А., Кудряева А.А., Чернов А.С., Белогуров А.А. 78
- 6.14. СРАВНЕНИЕ НК-КЛЕТОЧНОЙ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ В ГОМОТИПИЧЕСКИХ И ГЕТЕРОТИПИЧЕСКИХ 3D-КУЛЬТУРАХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК
Фоменко А.Н., Алексеева Н.А., Вавилова Ю.Д., Алексеева Л.Г., Коваленко Е.И. 79
- 6.15. АНАЛИЗ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ КРОССРЕАКТИВНЫХ АНТИТЕЛ ПАЦИЕНТОВ С РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ, СВЯЗЫВАЮЩИХ НЕЙРОНАЛЬНЫЕ БЕЛКИ
Хазеев С.Н., Джелад С.С., Овчинникова Л.А., Ломакин Я.А. 80
- 6.16. KIR2DS4+ НК-КЛЕТКИ ДЕМОНИСТРИРУЮТ ПОВЫШЕННЫЙ УРОВЕНЬ СПОНТАННОЙ ДЕГРАДУЛЯЦИИ И СНИЖЕННУЮ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ
Черткова А.А., Устюжанина М.О., Коваленко Е.И. 81

СЕКЦИЯ 7

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ КЛЕТОЧНЫХ ПРОЦЕССОВ И МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

- 7.1. ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЦИС-ПЕТЕЛЬНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ КЛЕТКАХ НЕЙРОБЛАСТОМЫ ПРИ ИХ СОКУЛЬТИВАЦИИ С ГЛИОБЛАСТОМОЙ
Васильева Н.А., Кудрявцев Д.С., Гондаренко Е.А. 82
- 7.2. СЕНСОР ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА H_2O_2 КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ АНТИОКСИДАНТНЫХ СИСТЕМ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ ОТВЕТЕ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС
Витковская Е.В., Иванова Ю.С., Пуговкина Н.А., Люблинская О.Г. ... 83
- 7.3. ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ГОМО- И ГЕТЕРО-ТЕТРАМЕРНЫХ ПОТЕНЦИАЛ-ЗАВИСИМЫХ КАНАЛОВ $\text{Kv}1.1/1.2$ МЕТОДОМ ПАТЧ-КЛАМП
Казаков О.В., Крюкова Е.В., Некрасова О.В., Феофанов А.В. 84
- 7.4. ИССЛЕДОВАНИЕ ГАЛОГЕНИРУЮЩЕГО СТРЕССА В МОДЕЛИ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ НА ТРОЙНОЙ КУЛЬТУРЕ НЕЙРОНОВ, АСТРОЦИТОВ И МИКРОГЛИИ
Катруха В.А., Сергеева А.Д., Храмова Ю.В., Билан Д.С. 85
- 7.5. РАЗРАБОТКА ГЕТЕРОТИПИЧЕСКИХ КЛЕТОЧНЫХ 3D-МОДЕЛЕЙ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ДЛЯ АНАЛИЗА АКТИВНОСТИ НК-КЛЕТОК ЛИНИИ УТ
Леонтьева А.А., Абдурахманова М.М., Нуштаева А.А. 86
- 7.6. МЕХАНИЗМЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНОВ ЦИНКА НА МЕМБРАННЫЕ СТРУКТУРЫ ЛИПОСОМ ИЗ СОЕВОГО ЛЕЦИТИНА
Маишуква А.В., Дубовик А.С., Швыдкий В.О., Шишкина Л.Н. 87

СЕКЦИЯ 8

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

- 8.1. ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ УСЛОВИЙ МОДИФИКАЦИИ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ НА ОБРАЗОВАНИЕ ПОКРЫТИЯ ИЗ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА НА ИХ ПОВЕРХНОСТИ
Абдуллина М.И., Ильиных А.А., Торопцева А.В., Горобец М.Г., Батчаева Б.Б., Бирюкова М.И., Костанова Е.А., Майорова О.А., Бычкова А.В. 88
- 8.2. ПРИМЕСНЫЕ БЕЛКОВЫЕ ФРАКЦИИ В ТЕЛЬЦАХ ВКЛЮЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРФЕРОНА БЕТА ЧЕЛОВЕКА В БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЕ
Алтухова Д.А., Бояршин К.С., Батлуцкая И.В. 89
- 8.3. НАНОПРИЗМЫ СЕРЕБРА В ОНКОТЕРАНОСТИКЕ: СИНТЕЗ, ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИМЕНЕНИЕ *in vitro* и *in vivo*
Антонova А.О., Колесникова О.А., Светлакова А.В., Комедчикова Е.Н., Иванцова П.М., Шипунова В.О. 90
- 8.4. РАЗРАБОТКА ПОДХОДА К БИОВИЗУАЛИЗАЦИИ НА ОСНОВЕ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ НАНОЧАСТИЦ
Бочкова М.А., Меликов Р.О., Литвиненко А.В., Никитин М.П. 91
- 8.5. ГИБРИДНЫЕ НАНОРАЗМЕРНЫЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ, ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА, СТЕАРИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ ПРОИЗВОДНЫХ
Вересова М.С., Торопцева А.В., Батчаева Б.Б., Горобец М.Г., Абдуллина М.И., Бычкова А.В. 92
- 8.6. ПОЛУЧЕНИЕ ЛИПИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ ИОНИЗИРУЕМОГО КАТИОННОГО ЛИПИДА ДЛЯ ДОСТАВКИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ
Гайсин К.Ш., Водовозова Е.Л. 93
- 8.7. ПОЛУЧЕНИЕ АНТИТЕЛ ПРОТИВ ЛИДЕРНОГО БЕЛКА ВИРУСА ЭНЦЕФАЛОМИОКАРДИТА
Гладнева Е.Е. 94
- 8.8. ОЦЕНКА ПЕРОКСИДАЗОПОДОБНЫХ СВОЙСТВ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ В СОСТАВЕ ГИБРИДНЫХ НАНОСИСТЕМ
Горобец М.Г., Абдуллина М.И., Торопцева А.В., Бычкова А.В. 95
- 8.9. СИНТЕЗ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ МАГНИТНО-КРЕМНИЕВЫХ НАНОЧАСТИЦ В КАЧЕСТВЕ ОБЪЕКТОВ ДЛЯ БИОВИЗУАЛИЗАЦИИ *in vitro* И *in vivo*
Дукат А.М., Юрченко М.А., Шипунова В.О. 96
- 8.10. ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ПРИ БИООКИСЛЕНИИ УПОРНОГО ПИРИТ-АРСЕНОПИРИТНОГО КОНЦЕНТРАТА В НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЯХ
Дюбарь А.М., Булаев А.Г., Артыкова А.В., Елкина Ю.А., Колосов А.В., Меламуд В.С., Нечаева А.В., Марданов А.В. 97

- 8.11. ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ СИНТЕЗ 3'-ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОЗИДА N-(4-ХЛОРФЕНИЛ)-1Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-КАРБОКСАМИДА
Ефимова А.А., Зорина Е.А., Каюшин А.Л. 98
- 8.12. БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ МАЖОРНЫХ АЛЛЕРГЕНОВ СОИ Gly m 4 И ПЫЛЬЦЫ БЕРЕЗЫ Bet v 1, А ТАКЖЕ ХИМЕРНЫХ БЕЛКОВ Bet v 1-Gly m 4 И СТВ-Bet v 1-Gly m 4
Ионин А.В., Финкина Е.И., Овчинникова Т.В., Богданов И.В. 99
- 8.13. ПЕРЕРАБОТКА ЭЛЕКТРОННЫХ ОТХОДОВ ПОСРЕДСТВОМ ДВУХСТАДИЙНОГО БИОГИДРОМЕТАЛЛУРГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА
Колосов А.В., Меламуд В.С., Булаев А.Г. 100
- 8.14. ФОТОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ АЛЬБИНАТНЫЕ АЭРОГЕЛИ С РАЗНОЛИГАНДНЫМИ КОМПЛЕКСАМИ РЕДКОЗЕМЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ГАЗОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ БИОСЕНСОРОВ
Коряковцева А.А., Каплин В.С., Копылов А.С., Соловьева А.Б. 101
- 8.15. ПОЛУЧЕНИЕ ВСТ-ПОДОБНОЙ ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ТЕСТ-СИСТЕМАХ С ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ АМПЛИФИКАЦИЕЙ
Кутуков Р.Р., Рязанцев Д.Ю., Чернов А.С. 102
- 8.16. ИЗУЧЕНИЕ МЕТОДА “ЗАМОРАЖИВАНИЯ-ОТТАИВАНИЯ” ДЛЯ СИНТЕЗА КОНЬЮГАТОВ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ С НАНОЧАСТИЦАМИ
Лапишинов Н.Э., Сафенкова И.В., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. 103
- 8.17. СИНТЕЗ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХОЛЕСТЕРИНА ДЛЯ НАНОМЕДИЦИНЫ
Лашина Е.А., Грецакая Н.М. 104
- 8.18. ПЕРСПЕКТИВЫ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОЛИ-ГАММА-ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ, ПРОДУЦИРУЕМОЙ ГАЛОФИЛЬНЫМИ БАКТЕРИЯМИ *Vacillus velezensis*
Липатов Н.Н., Кузина М.С., Сигида Е.Н., Величко Н.С., Федоненко Ю.П. 105
- 8.19. ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ СИНТЕЗА РЕКОМБИНАНТНОГО КАПСИДНОГО БЕЛКА VP1 ВИРУСА ПОЛИОМИЕЛИТА В РАСТЕНИЯХ РОДА *Nicotiana*
Мартиросян Л.Ю., Орехова Е.С., Хабибуллин Н.Р., Якупова Р.Д., Деревянко А.О., Ивин Ю.Ю. 106
- 8.20. ЭНДОЛИЗИН БАКТЕРИОФАГА T5 КАК НОВЫЙ ПАРТНЁР ДЛЯ ПРОДУКЦИИ РАСТВОРИМЫХ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ
Матишинец А.В., Чернышов С.В., Степаненко В.Н., Микулинская Г.В. 107
- 8.21. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЗОТФИКСИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ РИЗОСФЕРНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФЕРЕЗА
Наводкина Е.С., Исаков Д.В. 108

- 8.22. ПОИСК АЛЬТЕРНАТИВНЫХ ТРАНСПОРТЁРОВ АМИНОКИСЛОТ С РАЗВЕТВЛЕННОЙ БОКОВОЙ ЦЕПЬЮ У *Corynebacterium glutamicum*
Розанцева В.В., Шереметьева М.Е., Дербииков Д.Д., Орлов А.С., Яненко А.С. 109
- 8.23. ИЗУЧЕНИЕ И ФОРМИРОВАНИЕ ПОДХОДОВ БИОЗАЩИТЫ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ ОТ БАКТЕРИОЗОВ
Токмакова А.Д., Лукьянова А.А., Комаревцев С.К., Мирошников К.А. 110
- 8.24. ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ ГИБРИДНЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ПИРОФЕОФОРБИДОМ А
Торопцева А.В., Горобец М.Г., Хачатрян Д.С., Абдуллина М.И., Колотаев А.В., Градова М.А., Золотцев В.А., Бычкова А.В. 111
- 8.25. МОДИФИКАЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ АДРЕСНОЙ ТЕРАПИИ HER2-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ
Фуртак Е.Д., Зверева С.Д., Шипунова В.О. 112
- 8.26. ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ СИНТЕЗА АНАЛОГОВ 2'-ДЕЗОКСИАДЕНОЗИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ТРАНСГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ
Шемет Е.Ю., Берзина М.Я., Константинова И.Д. 113
- 8.27. ТЕХНОЛОГИЯ СМФ-ЦИТОБЛОКАДЫ КАК ИНСТРУМЕНТ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ НАНОАГЕНТОВ ДЛЯ ТЕРАПИИ СОЦИАЛЬНО-ЗНАЧИМЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
Шипунова В.О. 114
- 8.28. РАЗРАБОТКА БИОСОВМЕСТИМЫХ АГЕНТОВ ДЛЯ ФОТОТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
Юрьева А.М., Шипунова В.О. 115

СЕКЦИЯ 9

БИМЕДИЦИНСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- 9.1. КОНЪЮГАТ ИБУПРОФЕНА И ЭНАЛАПРИЛА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ЛИГАНД МОНОМЕРНОЙ И ПРОТОФИБРИЛЛЯРНОЙ ФОРМ β -АМИЛОИДНОГО ПЕПТИДА
Аликова В.Д., Дерюшева Е.И., Шевелёва М.П., Немайшкова Е.Л., Вологжанникова А.А., Литус Е.А. 116
- 9.2. НАНОЧАСТИЦЫ НА ОСНОВЕ НИТРИДА ГАФИНА КАК МЕДИАТОРЫ ФОТОТЕРМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ И РАДИОТЕРАПИИ
Бабкова Ю.С., Горелик Л.В., Зелукин И.В., Деев С.М. 117
- 9.3. СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ РЕЦЕПТОРЫ ДОФАМИНА, СЕРОТОНИНА, ГЛУТАМАТА, С РИСКОМ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА
Берёзов А.Ю., Кокаева З.Г., Нефёдова Л.Н. 118
- 9.4. ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ГЛУБОКОГО ОБУЧЕНИЯ ДЛЯ СРАВНИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗА НЕЯВНЫХ ПАТТЕРНОВ КОЭКСПРЕССИИ КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ДЛИННЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК
Бородин И.П., Соловьев Я.В., Евпак А.С., Белогуров А.А. 119

- 9.5. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АЛГОРИТМОВ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ РИСКОВ РАЗВИТИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ
Бруттан М.В., Иванов М.В., Капитанова Д.А., Мамчур А.А., Джуманиязова И.Х., Даниэль В.В., Зеленова Е.А., Яковчик А.Ю., Гусакова М.С., Румянцева А.М., Терехов М.В., Митрофанов С.И., Некрасова А.И., Акопян А.А., Стражеско И.Д., Ткачева О.Н., Юдин В.С., Макаров В.В., Краевой С.А., Юдин С.М. 120
- 9.6. ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ИМПУЛЬСНЫМ РЕЖИМОМ ОБЛУЧЕНИЯ
Буреев П.А., Игнатова Н.И., Елагин В.В. 121
- 9.7. ДИАГНОСТИКА ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ С ГИПЕРЭКСПРЕССИЕЙ HER2-РЕЦЕПТОРА ПОСРЕДСТВОМ ДАРПИНА
Вараксина Т.Ю., Миркасымов А.Б., Файзуллин А.Л., Звягин А.В., Деев С.М. 122
- 9.8. ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ СОЛЕЙ ХИТОЗАНА
Волкова М.В., Марков П.А., Егоров С.А., Скакунова Т.Ю., Гасанов Р.Р., Глушков А.А., Еремин П.С., Ковалевский Я.Б. 123
- 9.9. РАЗРАБОТКА БИОСОВМЕСТИМЫХ НАНОКОНСТРУКЦИЙ НА ОСНОВЕ АПКОНВЕРТИРУЮЩИХ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ РАСТВОРЕННОГО КИСЛОРОДА
Волчок А.А., Хайдуков К.В., Волостных М.В., Акасов Р.А., Генералова А.Н., Хайдуков Е.В., Демина П.А. 124
- 9.10. МЕТАЛЛ-ОРГАНИЧЕСКИЕ КАРКАСНЫЕ СТРУКТУРЫ ДЛЯ ТАРГЕТНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ
Гамбург Е.В., Грязнова О.Ю., Согомонян А.С., Миркасымов А.Б., Деев С.М. 125
- 9.11. КОМПОЗИТНЫЕ МАТРИКСЫ, СОДЕРЖАЩИЕ МАГНИТНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ, ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ
Гладких Д.А., Дроздова М.Г., Толстова Т.В., Сажнев Н.А., Усвалев А.Д., Веселов М.М., Кильдеева Н.Р., Клячко Н.Л., Марквичева Е.А. 126
- 9.12. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ЛИГАНД-РЕЦЕПТОРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ РАКОВЫХ И ИММУННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ КЛЕТОК ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТРАНСКРИПТОМНОГО АНАЛИЗА
Глушак Р.А., Ракитина О.А., Кондратьева С.А., Сухова М.В., Филоненко Д.А., Иванов М.А., Горбунова М.И., Алексеенко И.В., Жукова Л.Г., Дидыч Д.А. 127
- 9.13. ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ НА ЗД КЛЕТОЧНЫХ СФЕРОИДАХ
Гольиварт Е.П., Согомонян А.С., Котельникова П.А., Миркасымов А.Б., Деев С.М. 128

- 9.14. СОЗДАНИЕ КОМПЛЕКСА НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА С ФЛАВИН МОНОНУКЛЕОТИДОМ ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ИНАКТИВАЦИИ БАКТЕРИЙ *E. coli*
Душина А.О., Степанов М.Е., Аржанов А.И., Кольченко А.М., Егорова Т.В., Хайдуков Е.В., Генералова А.Н. 129
- 9.15. НОВЫЕ АНАЛОГИ ТРОМБИН-СВЯЗЫВАЮЩЕГО АПТАМЕРА С МОДИФИЦИРОВАННЫМ КВАДРУПЛЕКСНЫМ ЯДРОМ
Ермолаева А.Н., Петрова К.В., Варижук И.В., Тимофеев Э.Н. 130
- 9.16. ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ БЕЛКОВ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ ОСТРОВКОВ ЛАНГЕРГАНСА *in vitro*
Жарова П.М., Ермакова П.С., Васильчикова Е.А., Батенькин М.А., Чесноков С.А., Загайнова Е.В., Кашина А.В. 131
- 9.17. ПРОИЗВОДНЫЕ СУКЦИНИМИДОВ КАК ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ pH-СЕНСОРЫ
Жихрева А.В., Чупахин Е.Г. 132
- 9.18. ПРИМЕНЕНИЕ ПЦР-РВ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ РЕАКТИВАЦИИ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИ РЕПРЕССИРОВАННОГО ГЕНА ZsGreen1 В ТЕСТ-СИСТЕМЕ НА ОСНОВЕ КЛЕТОК A549 T1, MDA-MB-231 T1, HCT116 T1
Зимин К.А., Максимова В.П., Лылова Е.С., Кирсанов К.И., Якубовская М.Г. 133
- 9.19. СИНТЕЗ И ХАРАКТЕРИСТИКА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СПЕКТРА НАНОФОРМУЛЯЦИЙ ДЛЯ ДОСТАВКИ В ТКАНИ МИОКАРДА
Зорохович Д.А., Комедчикова Е.Н., Юрченко М.А., Колесникова О.А., Шипунова В.О. 134
- 9.20. МАКРОПОРИСТЫЕ ГИДРОГЕЛИ НА ОСНОВЕ ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА, СОДЕРЖАЩИЕ ПОЛИПИРРОЛ, ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ
Иванова А.Д., Гладких Д.А., Дроздова М.Г., Артюхов А.А., Марквичева Е.А. 135
- 9.21. HAND2 КАК ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ МИШЕНЬ ТЕРАПИИ ГЛИОБЛАСТОМЫ
Иванова Е.И., Мазур Д.В., Антипова Н.В. 136
- 9.22. ИЗМЕНЕНИЯ ЦИРКАДИАННОЙ ДИНАМИКИ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ ПРЕНАТАЛЬНО ГИПОКСИРОВАННЫХ САМОК КРЫС ПРИВОДЯТ К НАРУШЕНИЯМ В ГЛЮКОКОРТИКОИДНОЙ СИСТЕМЕ ИХ ПОТОМСТВА
Исаков И.Э., Потапова С.С., Стратилев В.А., Ветровой О.В. 137
- 9.23. РАЗРАБОТКА ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ НАПРАВЛЕННОГО СКРИНИНГА КОМБИНАТОРНЫХ БИБЛИОТЕК АНТИМИКРОБНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПЕПТИДНОЙ ПРИРОДЫ
Калганова А.И., Пития С.О., Смирнов И.В., Терехов С.С. 138
- 9.24. СОЗДАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО БИОСЕНСОРА И ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ В ЗАДАЧЕ ИДЕНТИФИКАЦИИ НОВЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ И АНТИБИОТИКОВ
Кашиев Г.А., Калганова А.И., Терехов С.С. 139

- 9.25. РАЗРАБОТКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ПОКРЫТИЯ ДЛЯ ХИРУРГИЧЕСКИХ СИСТЕМ ДРЕНАЖА
Китайцев А.А., Простякова А.И. 140
- 9.26. ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЙ БИОИМИДЖИНГ ПЕЧЕНИ ПРИ РЕГЕНЕРАЦИИ НА ФОНЕ ОСТРОГО ПЕЧЁНОЧНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ
Козлова В.А., Родимова С.А., Бобров Н.В., Щечкин И.Д., Козлов Д.С., Кузьмин Д.А., Карабут М.М., Загайнова Е.В., Кузнецова Д.С. 141
- 9.27. РАЗРАБОТКА HER2-СПЕЦИФИЧНЫХ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ НАЦЕЛИВАНИЯ НА рН ОПУХОЛЕВОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ
Колесникова О.А., Леванович В.В., Шипунова В.О. 142
- 9.28. ОЦЕНКА КИСЛОРОДНОГО СТАТУСА ОПУХОЛЕЙ В МОДЕЛИ *in vivo* ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ТАРГЕТНОЙ ANTI-VEGF ТЕРАПИИ
Комарова А.Д., Дружкова И.Н., Критченков И.С., Туник С.П., Щеславский В.И., Ширманова М.В. 143
- 9.29. ИЗУЧЕНИЕ БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ НАНОАГЕНТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПОСОБА ИХ ВВЕДЕНИЯ В ОРГАНИЗМ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЛИНИЙ МЫШЕЙ
Комедчикова Е.Н., Колесникова О.А., Обозина А.С., Шипунова В.О.... 144
- 9.30. ОЦЕНКА НАПРЯЖЕННОСТИ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА К ВОЗБУДИТЕЛЮ ГЕПАТИТА В У ДОНОРОВ КРОВИ И ЕЕ КОМПОНЕНТОВ
Коновалова Е.А., Калинина Е.Н., Росина Е.В., Зиганишина С.Е., Кормицикова Е.С. 145
- 9.31. ИЗУЧЕНИЕ ВАКЦИННЫХ КАНДИДАТОВ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА ЭНТЕРОКОККА С ВКЛЮЧЕНИЕМ ГЕНА S БЕЛКА КОРОНАВИРУСА SARS-CoV-2 И ГЕНА НА ВИРУСА ГРИППА
Коптева О.С., Дешева Ю.А., Гупалова Т.В., Бормотова Е.А., Леонтьева Г.Ф., Суворов А.Н. 146
- 9.32. МОДИФИКАЦИЯ НАНОЧАСТИЦ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕМБРАН РАКОВЫХ КЛЕТОК
Короткова Н.А., Котельникова П.А., Деев С.М. 147
- 9.33. *In vitro* ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИТОХОНДРИЙ НА ПОГЛОЩЕНИЕ НАНОАГЕНТОВ
Крючков Д.Ю., Бабкова Ю.С., Зелепукин И.В. 148
- 9.34. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ миРНК, СНИЖАЮЩЕЙ УРОВЕНЬ КАТЕПСИНА В В МАКРОФАГАХ M2, НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ РАКОВЫХ КЛЕТОК
Кузнецова А.Б., Егорова В.С. 149
- 9.35. ФОРМИРОВАНИЕ ГИАЛУРОНОВЫХ ГИДРОГЕЛЕВЫХ СКАФФОЛДОВ *in situ* В ХОДЕ РЕАКЦИИ, АКТИВИРУЕМОЙ КРАСНЫМ СВЕТОМ, КАК ПОДХОД ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЛУБОКИХ РАН
Кузьяева В.И., Социлина А.В., Савельев А.Г., Простякова А.И., Сафонова Е.А., Генералова А.Н. 150

- 9.36. ПОЛИМЕРНЫЕ МИЦЕЛЛЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОНА, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ЛИГАНДОМ DR5-B, ДЛЯ ТАРГЕТНОЙ ДОСТАВКИ В РАКОВЫЕ КЛЕТКИ
Куликова Д.И., Куковьякина Е.В., Гилева А.М., Яголович А.В., Кусков А.Н., Марквичева Е.А. 151
- 9.37. АНАЛИЗ ХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШЕЙ С ГИПЕРЭКСПРЕССИЕЙ БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА МЕТОДАМИ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ
Литвинова В.В., Шарова С.О., Белицкая Е.Д., Макаренко В.Ю., Залыгин А.В., Олейников В.А. 152
- 9.38. ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОНКОГЕНОВ В ГЛИОБЛАСТОМЕ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ АГЕНТОВ
Мазур Д.В., Антипова Н.В. 153
- 9.39. СОЗДАНИЕ КОМПЛЕКСОВ ПРОИЗВОДНОГО ХЛОРИНА p_6 С АПКОНВЕРТИРУЮЩИМИ НАНОЧАСТИЦАМИ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ
Николаева М.Е., Демина П.А., Генералова А.Н., Хайдуков К.В., Акасов Р.А., Хайдуков Е.В. 154
- 9.40. ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМЫЕ СУБ-МИКРОЧАСТИЦЫ ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ДОКСОРУБИЦИНА К HER2-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ ОПУХОЛЯМ
Обозина А.С., Юрьева А.М., Сизиков А.А., Штутнова В.О. 155
- 9.41. ОСОБЕННОСТИ ТЕХНИЧЕСКОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ МЕДИЦИНСКИХ ГАЗОВ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ИНЕРТНЫХ ГАЗОВ
Першикова Е.Р., Петров В.А., Иванов А.О., Моргунов Н.А., Куданов Я.В., Майоров И.В. 156
- 9.42. ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ РАННЕГО ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ ЖИВОЙ ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ГЕТЕРОЛОГИЧНОЙ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ
Петрачкова Д.С., Рекстин А.Р., Майорова И.В., Копылова Н.В., Гуженков Д.С., Соколовский Д.С., Дешева Ю.А. 157
- 9.43. ГЕНЫ KLF4 И KLF6 КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ МИШЕНИ ТЕРАПИИ НЕЙРОГЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ
Петросян Э.Г., Мазур Д.М., Антипова Н.В. 158
- 9.44. КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ИММУНОТОКСИНА DARP-10PE И ПРОТИВОРАКОВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА HER2-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ КЛЕТКИ
Подолько В.В., Котельникова П.А., Деев С.М. 159
- 9.45. ВИЗУАЛИЗАЦИЯ СТРУКТУР В ГЛУБОКИХ ТКАНЯХ НА ПРИМЕРЕ СОСУДОВ В ЛЕГКИХ: ОБРАБОТКА ИЗОБРАЖЕНИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ ПОМОЩИ ДВУХФОТОННОЙ МИКРОСКОПИИ
Портнов С.А., Шаляпин С.С., Богородский А.О., Борщевский В.И., Шевченко М.А. 160

- 9.46. СНИЖЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В МОЗГЕ ВЗРОСЛЫХ КРЫС, ПЕРЕЖИВШИХ ПРЕНАТАЛЬНУЮ ГИПОКСИЮ, СОПРЯЖЕННУЮ СО СТРЕССОМ МАТЕРИ, ВЫЗЫВАЕТ СКЛОННОСТЬ К НИКОТИНОВОЙ ЗАВИСИМОСТИ ЧЕРЕЗ НАРУШЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ $\alpha 7$ -nAChR
Потапова С.С., Стратилов В.А., Ветровой О.В. 161
- 9.47. ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ И СОСТАВА НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛ-ОРГАНИЧЕСКИХ КАРКАСНЫХ СТРУКТУР НА ГЕНЕРАЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА
Похоруков Д.А., Грязнова О.Ю., Горин Д.А., Деев С.М. 162
- 9.48. ГЕНЫ RHOX2A И RHOX2B КАК РЕГУЛЯТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ НЕЙРОГЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ
Резекина А.И., Мазур Д.В., Антипова Н.В. 163
- 9.49. УПРАВЛЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКОЙ НАНОЧАСТИЦ ПОСРЕДСТВОМ БЛОКАДЫ СИСТЕМЫ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ФАГОЦИТОВ ЛИПОСОМАМИ РАЗНЫХ РАЗМЕРОВ
Родионов В.И., Миркасыймов А.Б., Беляев Я.Б., Бабкова Ю.С., Никитин П.И., Зелепукин И.В., Деев С.М. 164
- 9.50. РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ К ДИАГНОСТИКЕ И ТЕРАПИИ ГЛИОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА НА ОСНОВЕ ОПТИЧЕСКОГО ИМИДЖИНГА: ОТ ОБРАЗЦОВ ПАЦИЕНТА ДО ПАЦИЕНТ-СПЕЦИФИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ *in vitro* И *in vivo*
Сачкова Д.А., Ширманова М.В., Южакова Д.В., Киселева Е.Б., Щеславский В.И., Юсубалиева Г.М., Баглаушев В.П., Можеров А.М., Бедерина Е.Л., Яшин К.С. 165
- 9.51. АДСОРБЦИЯ БЕЛКОВ НА МИКРОПОРИСТЫЕ И НЕТКАНЫЕ МЕМБРАНЫ ИЗ ПОТОКА РАСТВОРА
Сидорова А.Е., Прусаков К.А., Маслакова А.А., Багров Д.В. 166
- 9.52. ПОИСК НОВЫХ АУТОАНТИГЕНОВ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ
Стасова В.А., Захарова М.Ю., Габибов А.Г. 167
- 9.53. ФОТООТВЕРЖДАЕМЫЕ ДВУХСЛОЙНЫЕ ГИДРОГЕЛИ С ИНКОРПОРИРОВАННЫМИ КЛЕТОЧНЫМИ СФЕРОИДАМИ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ДЕФЕКТОВ ТКАНЕЙ
Сучков М.Ю., Кузьева В.И., Кравчук К.С., Дроздова М.Г., Сочилина А.В., Акасов Р.А., Егорова Т.В., Хайдуков Е.В., Генералова А.Н. 168
- 9.54. ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ И ЦИТОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ДИАМИДОВ И АМИДОЭФИРОВ ЩАВЕЛЕВОЙ КИСЛОТЫ
Терновская Н.Д., Лифинцева А.А., Калистратова А.В., Ощепков М.С., Акимов М.Г. 169
- 9.55. РАЗРАБОТКА МЕТОДА ВЫДЕЛЕНИЯ АУТОАНТИТЕЛ ПРОТИВ ИНСУЛИНА В МИКРОМАСШТАБЕ С ПОМОЩЬЮ АФФИННОГО ЗАХВАТА НА БИОЧИПЕ
Трухин Д.С., Савватеева Е.Н. 170

9.56.	АНТИГЛИКАНОВЫЕ АНТИТЕЛА КОШЕК КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ <i>Чекирева М.Е., Полякова С.М., Нокель А.Ю., Бовин Н.В., Шилова Н.В.</i>	171
9.57.	ОЦЕНКА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ПАТОГЕНОВ В РАЗЛИЧНЫХ ГЕНЕРАЦИЯХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ <i>Шаляпин С.С., Портнов С.А., Богородский А.О., Шевченко М.А.</i>	172
9.58.	ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА МАССОЙ 70 КДА В СРЕЗАХ ТКАНИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ HSP70[IN] И HSP70[EX] С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СПЕКТРОВ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЙАНИЯ <i>Щарова С.О., Литвинова В.В., Белицкая Е.Д., Залыгин А.В., Олейников В.А.</i>	173
9.59.	HOW CAN ICE EMERGE AT 0°C AND WHAT DO SO STRUCTURALLY DIFFERENT ICE-BINDING PROTEINS DO? <i>Finkelstein A.V., Melnik B.S., Garbuzynskiy S.O.</i>	174
	КАК МОЖЕТ ВОЗНИКНУТЬ ЛЁД ПРИ 0°C И ЧТО ДЕЛАЮТ СТОЛЬ РАЗНЫЕ ПО СТРУКТУРЕ ЛЁД-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ? <i>Финкельштейн А.В., Мельник Б.С., Гарбузинский С.А.</i>	175
9.60.	ИССЛЕДОВАНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ В МОДУЛЯЦИИ ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ ИНФЕКЦИИ <i>Mycobacterium abscessus</i> <i>Фомичева Ю.С., Григоров А.С., Скворцова Ю.В., Мартини Б.А., Салина Е.Г., Ажикина Т.Л., Быченко О.С.</i>	176
	АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ	177
	СОДЕРЖАНИЕ	183

