

---

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
РОССИЙСКОЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО ИМЕНИ И.П. ПАВЛОВА  
РОССИЙСКОЕ ОБЩЕСТВО БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ  
РОССИЙСКИЙ НАУЧНЫЙ ФОНД

*при участии*

СОЮЗА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЩЕСТВ СТРАН СНГ

---



# III ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ ФИЗИОЛОГОВ, БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ

VII СЪЕЗД БИОХИМИКОВ РОССИИ  
X РОССИЙСКИЙ СИМПОЗИУМ «БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ»  
VII СЪЕЗД ФИЗИОЛОГОВ СНГ

## НАУЧНЫЕ ТРУДЫ ТОМ 2

*Под редакцией  
А.Г. Габилова и М.А. Островского*

Сочи – Дагомыс, Россия  
3–8 октября 2021

УДК 57  
ББК 28я43  
Т66

*Под редакцией А.Г. Габиева и М.А. Островского*

Т66 **III ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ ФИЗИОЛОГОВ,  
БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ**  
♦ **VII СЪЕЗД БИОХИМИКОВ РОССИИ**  
♦ **X РОССИЙСКИЙ СИМПОЗИУМ «БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ»**  
♦ **VII СЪЕЗД ФИЗИОЛОГОВ СНГ**  
(Сочи, Дагомыс, 3–8 октября 2021).  
**НАУЧНЫЕ ТРУДЫ. Том 2.** – М.: Издательство «Перо», 2021. – 313 с.

ISBN 978-5-00189-677-7 (Общ.)

ISBN 978-5-00189-678-4 (Т.2.)

## Содержание

### ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

Пленарные доклады	3
Химия и биология нуклеиновых кислот	7
Белки и пептиды	43
Геном. Протем. Метаболом	146
Биотехнология: фундаментальные основы и приложения	179
Биохимия растений	196
Молекулярная вирусология	204
Биохимия и молекулярная медицина	216
Ядерная медицина	277
Молекулярный имиджинг	289
<b>АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ</b>	<b>306</b>

---

Сборник научных трудов включает материалы актовых и пленарных лекций, симпозиальных докладов, выступлений на заседаниях круглых столов и стендовых докладов, представленных на VII Съезде биохимиков России, X Российском симпозиуме «Белки и пептиды» и VII Съезде физиологов СНГ в рамках III Объединенного научного форума физиологов, биохимиков и молекулярных биологов. Тематика представленных докладов охватывает актуальные разделы физиологии, биоорганической химии, биотехнологии, молекулярной биологии, молекулярной вирусологии и смежных дисциплин.

Книга рассчитана не только на специалистов, работающих в разных областях биомедицинских наук, но и на студентов, аспирантов, преподавателей и научных работников, интересующихся проблемами наук о жизни.

---

ISBN 978-5-00189-677-7 (Общ.)  
ISBN 978-5-00189-678-4 (Т.2.)

УДК 57  
ББК 28я43

© Российское общество биохимиков и молекулярных биологов, 2021  
© Союз физиологических обществ стран СНГ, 2021  
© Коллектив авторов, 2021

## ПОЛУЧЕНИЕ КОСТНОГО МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОГО БЕЛКА 2 ЧЕЛОВЕКА И ОЦЕНКА ЕГО БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НА МОДЕЛЯХ *IN VITRO* И *IN VIVO*

Д.Д. Лыкошин<sup>1</sup>, М.А. Костромина<sup>1</sup>, Ю.С. Лукина<sup>2</sup>, В.В. Зайцев<sup>2</sup>, И.И. Селезнёва<sup>3</sup>, Р.С. Есипов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва; <sup>2</sup>НМИЦ травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова, Москва; <sup>3</sup>Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино

Одним из перспективных подходов по созданию остеоиндуктивных материалов представляется иммобилизация на поверхности матрикса специфических факторов остеогенеза, таких как костный морфогенетический белок-2 (BMP-2). BMP-2 способствует росту и регенерации костной и хрящевой ткани, а также дифференцированию мезенхимальных клеток в остеобласты и миобласты. В лаборатории биофармацевтических технологий ИБХ РАН ранее был получен штамм-продуцент растворимой формы рекомбинантного костного морфогенетического белка 2 и разработан протокол его выделения и очистки. На культуре хондрогенных клеток мыши ATDC5 было показано, что полученный rhBMP-2 вызывает достоверное повышение уровня активности щелочной фосфатазы, продукции кальция и коллагена клетками по сравнению с контролем без rhBMP-2. Изучение транскрипционной активности генов-маркеров остеогенной дифференцировки на культурах клеток ATDC5 и стволовых клеток пульпы зуба человека (DPSC) при добавлении к ним rhBMP-2 (ИБХ РАН) продемонстрировало значительное увеличение экспрессии ключевых генов остеосинтеза: *Alpl* (в 6 раз), *Col3a1* (2.9 раз), *Smad-3* (74 раза), *Bmp-7* (2.3 раза), *Vdr* (9.7 раз) и *Bmp-6* (2.4 раза), *Smad-3* (9.1 раз), *Tgfb1* (8.1 раз) и *bglap* (3,9 раза). Сравнительную оценку биосовместимости и остеоиндуктивности материалов при включении в их состав rhBMP-2 проводили на модели подкожной имплантации крысам. В качестве материала в работе использовали фрагменты деминерализованной губчатой кости (ДКМ) человека, размером 10x5x5 мм. После эксплантации материала выполняли его гистологическое исследование, а также количественно измеряли содержание минерализованного кальция. Полученные данные свидетельствовали о выраженном остеоиндуктивном эффекте материалов, включающих рекомбинантный hBMP-2, в сравнении с контрольными группами. Отмечалось формирование структурированного неоколлагенового матрикса и «нового» волокнистого матрикса в зонах контакта с альгинатным гелем, содержащим rhBMP-2. Фрагменты ДКМ, заполненные альгинатным гелем, содержащим rhBMP-2, содержали больше минерализованного кальция (132 мг/г сухого веса), чем фрагменты без rhBMP-2 (30 мг/г сухого веса). Следующим этапом работы планируется изучение остеогенной активности материала-носителя с иммобилизованными ростовыми факторами и времени высвобождения rhBMP-2.

## ДИЗАЙН УДОБНОЙ СИСТЕМЫ ДЛЯ РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНОМА ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

А.Г. Матвеевко, А.С. Михайличенко, Н.А. Зайцева, Г.А. Журавлева

Кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

Технологии редактирования генома бурно развиваются в последнее десятилетие, активно внедряясь как в прикладные, так и фундаментальные исследования. Во многом это связано с открытием системы CRISPR-Cas9, позволяющей осуществлять разрывы в ДНК с заданной последовательностью. Специфичная последовательность, называемая также последовательностью-мишенью, закодирована в направляющей РНК (gRNA), которая в большинстве гетерологичных клеточных систем экспрессируется с помощью промоторов малых ядерных РНК. В дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* с этой целью часто используется промотор SNR52. Интересной особенностью последовательности промотора SNR52 является наличие на 3'-конце неполного сайта узнавания и разрезания рестриктазы Ksp22I, который можно использовать для "бесшовного" клонирования последовательности-мишени, причём такое клонирование можно осуществить с помощью стандартных ПЦР, рестрикции и лигирования. Нами были сконструированы векторы для редактирования генома дрожжей *S. cerevisiae*, содержащие компоненты системы CRISPR-Cas9, в которые можно осуществлять клонирование мишеней с помощью Ksp22I. Во всех векторах мы использовали последовательность гена *Streptomyces pyogenes* Cas9 (SpCas9), слитого с сигналом ядерной локализации (NLS SV40), который экспрессируется под контролем промотора GPD, а также последовательность gRNA, экспрессируемая под контролем промотора SNR52. Мы дополнительно добавили последовательность, кодирующую His6 для контроля продукции белка Cas9 в дрожжах. Нами были получены векторы для экспрессии Cas9 и gRNA по-отдельности и вместе, а также векторы для одновременной экспрессии Cas9 и двух gRNA. Полученные векторы успешно были использованы для редактирования генов, непосредственно участвующих или влияющих на процесс трансляции. В частности, в штамме 74-D694 нам удалось внести точечные мутации в ген SUP35, кодирующий фактор терминации трансляции eRF3 и произвести дизрупции генов TEF1 и TEF2, кодирующих фактор элонгации трансляции eEF1A. Кроме того, мы получили штаммы, изогенные U-1A-D1628, с дизрупцией гена NAM7, кодирующего компонент системы NMD (nonsense-mediated RNA decay), и с полной делецией рамки считывания гена PSH1. Работа поддержана РЦ РМиКТ ИП СПбГУ и грантами РФФИ 18-14-00050 и РФФИ 20-34-70156.

## РЕГУЛИРУЕМАЯ СУПЕР-ПРОДУКЦИЯ ЦЕЛЕВЫХ БЕЛКОВ В БАКТЕРИЯХ *RHODOCOCCUS*

А.О. Шемякина, Е.Г. Гречишников, А.Д. Новиков, И.П. Токмакова, Т.И. Калинина, К.В. Лавров, А.С. Яненко

НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИгенетика, Курчатовский геномный центр, Москва

Бактерии *Rhodococcus* являются перспективной платформой для применения в области биодеградации, биокатализа и биосинтеза различных соединений. Однако, их использование затруднено как из-за недостаточного количества экспрессионных штаммов, так и функционально охарактеризованных промоторов.

В настоящей работе мы изучили способность к экспрессии штамма *Rhodococcus rhodochrous* M33 и функционирование в нем набора рекомбинантных промоторов. Мы показали, что штамм поддерживает сверхэкспрессию целевого фермента (нитрилгидратазы) с использованием технологичных недорогих источников питания – ацетата и мочевины – без добавления факторов роста, что делает его подходящей платформой для экспрессии. Набор промоторов включал Ptuf (фактор элонгации Tu) и Psod (супероксиддисмутатаза) из *Corynebacterium glutamicum* ATCC13032, Pcp1 (изоцитратлиаза) из *Rhodococcus erythropolis* PR4 и Pnh (нитрилгидратаза) из *R. rhodochrous* M8. Уровни активности, возможности регуляции и зависимые от фазы роста