
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
АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ	306

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

полным ауксотрофом по изолейцину. Из литературных данных известно, что 2-кетобутират также может синтезироваться в клетке в результате реакции дезаминирования О-сукцинилглютамата, катализируемой ферментом MetB. Несмотря на то, что данная реакция считается нефизиологичной для клеток *E. coli*, мы проверили гипотезу о возможном способе биосинтеза 2-кетобутирата из метионина путем делеции гена *metB* в геноме штамма ВКПМ В-12873. Полученный штамм является ауксотрофом по метионину, однако сохраняет способность расти на минимальной среде без добавления изолейцина. Нами сделан вывод о существовании как минимум еще одного пути деградации треонина в клетках *E. coli*. С целью повышения рентабельности производства треонина также проведены эксперименты с рециклизацией биомассы штамма продуцента треонина. Разработана методика автолиза биомассы и оптимизирована методика ферментации штамма-продуцента треонина, позволяющая без ухудшения конверсии глюкозы в треонин заменить растительное сырье на биомассу, полученную после предыдущей ферментации, что решает проблему утилизации отходов производства, а также позволяет уменьшить себестоимость синтезируемой аминокислоты. Работа финансировалась «Курчатовским геномным центром» НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИгенетика

ПРИМЕНЕНИЕ ТЕХНОЛОГИИ CRISPR/Cpf1 ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ *CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM*

Д.Д. Дерби́ков, А.А. Самарин, А.С. Яненко

НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИгенетика, Москва

Бактерии рода *Corynebacterium glutamicum* используются в промышленном получении аминокислот на протяжении уже более 50 лет. На их основе получены штаммы-продуценты таких аминокислот как лизин и глутаминовая кислота. В настоящее время начаты работы по разработке штаммов-продуцентов валина на основе этой бактерии. Редактирование генома коринебактерий осложняется высоким GC составом и слабой гомологичной рекомбинацией. Поэтому использование новой технологии CRISPR/Cpf1 для редактирования геномов *Corynebacterium glutamicum* представляет значительный интерес для промышленной биотехнологии. Эта технология позволяет значительно упростить и ускорить процесс введения различных делеций и точечных замен в хромосомы будущих штаммов-продуцентов. На основе коммерческого плазмидного вектора pJYS3_crtYf создана серия плазмидных векторов, предназначенных для удаления ряда генов (*ilvA*, *brnQ*, *avtA*, *ppc*, *alaT*, *ldh*, *leuA*, *panB* и *panC*), влияющих на биосинтез валина в клетках коринебактерий. Технология введения делеций очень проста и занимает меньше времени по сравнению с классической схемой введения делеций с помощью интегративных суицидных векторов. Разработанные векторы использовались для создания модельных штаммов – продуцентов валина. Показано, что комбинации некоторых делеций позволяют увеличить продуктивность по валину с 0 до $14 \pm 1,4$ г/л валина. Апробированная технология будет использована в дальнейшем для создания на основе *Corynebacterium glutamicum* штамма-продуцента валина.

ТЕРМОИНАКТИВАЦИЯ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ В ГЕЛЕОБРАЗНЫХ СРЕДАХ КРАХМАЛА И ЖЕЛАТИНА

В.И. Лоншакова-Мукина¹, Е.Н. Есимбекова^{1,2}, В.А. Кратасюк^{1,2}

¹Сибирский федеральный университет; ²Институт биофизики СО РАН, Красноярск

Бутирилхолинэстераза (ВChE) ЕС 3.1.1.8 – фермент из класса гидролаз, катализирующий реакцию гидролиза бутирилтиохолина до тиохолина и масляной кислоты. ВChE, наряду с ацетилхолинэстеразой, активно применяется для мониторинга ингибиторов холинэстераз в воздухе, воде, почве и биологических жидкостях. Тем не менее, существуют проблемы обеспечения высокой активности и стабильности ВChE при хранении и использовании, в том числе в качестве распознающего элемента в биосенсорах. Настоящая работа демонстрирует простой способ увеличения термической стабильности ВChE за счет использования природных полимеров. Активность ВChE определяли в присутствии разных концентраций желатина (от 0.4 до 3%), крахмала (от 1 до 4,2%) и без стабилизирующих добавок (контроль). Температурную инактивацию ВChE изучали, инкубируя ферменты в течение 5–30 мин при разных температурах в интервале от 50 до 64°C в 1,4% растворе желатина, 3% крахмале и в отсутствие стабилизирующих добавок (контроль). Активность ВChE определяли по методу Элмана. По изменению оптической плотности во времени, измеренной на спектрофотометре UV-2700 (Shimadzu, Япония) на длине волны 412 нм, вычисляли скорость гидролиза субстрата ВChE – S-бутирилтиохолина йодистого, по полученным результатам делали вывод о скорости реакции. Анализ термической инактивации тетрамерной формы ВChE в крахмальном и желатиновом гелях при 50–64°C показал, что кинетика термоинактивации имеет второй порядок, и включает два различных механизма инактивации ВChE, последовательно сменяющих друг друга и протекающих с разными скоростями (быстрый и медленный процессы). Значения ΔH^\ddagger для быстрой и медленной фаз термоинактивации ВChE в крахмальном геле составили 61 ± 3 и 22 ± 2 Ккал/моль, соответственно, значения ΔS^\ddagger составили 136 ± 12 и -2.03 ± 0.05 кал/(К·моль), соответственно. В желатиновом геле значения ΔH^\ddagger составили 58 ± 6 и 109 ± 11 Ккал/моль, значения ΔS^\ddagger составили 149 ± 16 и 262 ± 21 кал/(К·моль), соответственно. Согласно значениям активационных параметров крахмальный гель оказывает больший стабилизирующий эффект на ВChE при длительном воздействии высоких температур по сравнению с желатиновым гелем. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, Правительства Красноярского края, Красноярского краевого фонда науки, проект № 20-44-242001.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ ШАПЕРОНОВ С ПРИОННОЙ ФОРМОЙ БЕЛКА Sup35 С ПОМОЩЬЮ ИНСЕРЦИОННОГО АНАЛИЗА

Н.А. Зайцева, А.Г. Матвеев, Г.А. Журавлева

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

Фактор [PSI⁺] – прион дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Он образуется из молекул белка Sup35, который в норме выполняет функцию фактора терминации трансляции. В случае перехода в прионную изоформу Sup35 теряет свою функциональность, а взаимодействие нативного Sup35 с такой изоформой приводит к его агрегации. Отсутствие эффективной терминации

трансляции в клетках с прионом [PSI+] приводит к нонсенс-супрессии. На присутствие прионов в клетке влияют белки-шапероны. Один из важнейших для поддержания [PSI+] шаперонов – Hsp104. Ранее было показано, что сверхэкспрессия HSP104 приводит к элиминации приона [PSI+]. При этом недавние работы по исследованию влияния Hsp104 и других шаперонов на прион [PSI+] частично не согласуются друг с другом. Например, избыток фактора сортировки шаперонов Cur1 приводил к потере [PSI+] по данным лаборатории L. Greene, а по данным лаборатории физиологической генетики СПбГУ – к усилению фенотипа данного приона. Поскольку в работах лаборатории L. Greene часто использовалась конструкция с инсерцией GFP внутри Sup35, мы предположили, что различия могут быть связаны с использованием разных конструкций для визуализации агрегации Sup35. В связи с этим мы проверили влияет ли наличие инсерций GFP в различные участки M-домена Sup35 на свойства [PSI+] и взаимодействие Sup35 с шаперонами. Мы обнаружили, что варианты Sup35NM, соединенные с GFP и Sup35C, приводят к усилению нонсенс-супрессии в штаммах [psi-] и могут поддерживать уже существующие агрегаты в штаммах [PSI+]. При этом интеграция GFP в M-домен снижает способность Sup35 индуцировать [PSI+] *de novo*. В дальнейших экспериментах мы показали, что белки Sup35-GFP способны включаться в агрегаты [PSI+], но инсерция GFP не оказывает существенного эффекта на взаимодействие [PSI+] с шаперонами. Таким образом, GFP в составе химерного белка, вероятно, мешает выполнению Sup35 своей роли в качестве фактора терминации трансляции. Однако нам не удалось обнаружить влияния инсерций GFP на взаимодействие Sup35 с системой шаперонов. Мы предположили, что присутствие различных вариантов Sup35 на плазмиде маскирует возможные эффекты шаперонов, поэтому в дальнейшем мы планируем получить штаммы с инсерциями GFP в гене SUP35 на хромосоме. *Работа поддержана РЦ РМукТ НП СПбГУ и грантами РФФИ 19-04-00173 и 20-34-70156.*

ФИЗИЧЕСКИЕ ГИДРОГЕЛИ НА ОСНОВЕ κ-КАРРАГИНАНА И ЖЕЛАТИНА ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ. МИКРОСТРУКТУРА И РЕОЛОГИЯ В ПРИСУТСТВИИ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК

Ю.Ф. Зуев¹, А.О. Макарова¹, О.С. Зуева², С.Р. Деркач³, С.А. Зиганшина⁴, А.Т. Губайдуллин⁵

¹Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН; ²Казанский государственный энергетический университет; ³Мурманский государственный технический университет, ⁴Казанский физико-технический институт им. Е.К. Завойского ФИЦ КазНЦ РАН; ⁵Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН, Казань

Гидрогели представляют собой трехмерные гидрофильные полимерные сетки, способные абсорбировать и удерживать большое количество воды или биологических жидкостей в своей структуре. Гидрогели обладают многообещающими свойствами для широкого спектра биомедицинских приложений благодаря их биосовместимости, отличной транспортной проницаемости лекарственных препаратов и метаболитов, а также структурному сходству с природным внеклеточным матриксом.

В докладе представлены результаты комплексного исследования физических гидрогелей на основе κ-каррагинана и желатина под задачи доставки лекарственных и диагностических средств с помощью взаимодополняющих структурных методов и реологических экспериментов. Эксперименты по малоугловому рентгеновскому рассеянию выполнены на дифрактометре Nanostar фирмы Bruker AXS, оборудованном двумерным CCD-детектором HiStar. Изучение морфологии поверхности регистрировалось с использованием атомно-силового микроскопа Titanium (NT-MDT, Зеленоград, Россия). Реологические свойства гидрогелей исследованы на реометре MCR 102 (Anton Paar) с измерительной системой «плита-плита».

Охарактеризованы различные уровни структурной организации исследованных гидрогелей в состояниях золь и гель, в том числе в присутствии углеродных нанотрубок. Показано, что исследуемые гидрогели могут быть использованы для моделирования вязкой среды при изучении процессов диффузионного переноса белков.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке проекта РФФИ 20-04-00157.

ПОЛИСАХАРИДНЫЕ ГИДРОГЕЛИ ДЛЯ ДОСТАВКИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ, ВИТАМИНОВ И ДИАГНОСТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

О.С. Зуева¹, А.О. Макарова², Л.Р. Богданова², В.В. Сальников², Д.А. Файзуллин², П.В. Зеленихин³, О.Н. Ильинская³, Ю.Ф. Зуев²

¹Казанский государственный энергетический университет; ²Казанский институт биохимии и биофизики, ФИЦ КазНЦ РАН; ³Казанский федеральный университет

Представлены результаты комплексного исследования гелевых систем на основе полисахаридов для доставки лекарственных и диагностических средств для нескольких препаратов различного функционального происхождения, а именно ферментных препаратов биназы и липазы, витамина B9 (фолиевая кислота) и бриллиантового зеленого, как модели медицинского контрастного вещества. Полисахаридные гидрогели представляют собой биополимерную матрицу, которую можно успешно использовать для инкапсуляции биоактивных молекул, включая ферменты. Описаны методы модификации полисахаридных сетей при использовании различных сшивающих катионов, а также путем добавления наночастиц (углеродных нанотрубок), усиливающих прочностные характеристики гелевых систем. Представлен краткий обзор данных о структуре полисахаридных гидрогелей, стабилизируемых физическими связями, в качестве систем доставки для ферментативной терапии, витаминов и диагностического лечения. Гидрогели и полученные на их основе микрокапсулы широко используются для доставки лекарств, благодаря их биосовместимости и биodeградации. Показано, что биомедицинскому применению гидрогелей может препятствовать токсичность некоторых сшивающих катионов и присутствие углеродных нанотрубок, используемых для модификации систем доставки и придания им новых свойств.