
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

курицы, температура активации которого по литературным данным составляет 40°C. В связи с этим в экспрессионный вектор была клонирована открытая рамка считывания TRPA1 канала курицы. Изначально активность канала тестировали на линейной культуре, где визуализацию ответа клеток наблюдали с помощью сенсора GCaMP6s, интенсивность флуоресценции которого увеличивается при связывании ионов кальция. В клетках линии НЕК293, котрансфицированных экспрессионным вектором и кальциевым сенсором, статистически значимое повышение флуоресценции примерно в 2 и 3 раза наблюдали при нагревании клеток до 41°C и 43°C соответственно, в то время как при действии аллилизотиоцианата, химического агониста TRPA1 каналов, амплитуда ответа увеличивалась примерно в 4 раза. После тестирования активности канала на клетках линии НЕК293, мы решили показать возможность стимуляции нейронов млекопитающих путем химической активации TRPA1 канала курицы электрофизиологическим методом. Для этого в первичной культуре нейронов гиппокампа эмбрионов мыши мы экспрессировали исследуемый канал. При действии аллилизотиоцианата регистрировали деплазматизацию плазматической мембраны трансфицированного нейрона и генерацию потенциалов действия. Таким образом, TRPA1 канал курицы проявляет функциональную активность при его гетерологичной экспрессии в клетках линии НЕК293 и первичной культуре нейронов гиппокампа мыши, и данный канал может быть использован для термогенетической активации клеток млекопитающих.

АНТИГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКАЯ СТИМУЛЯЦИЯ И ЭКСПАНСИЯ CAR-T КЛЕТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИСКУССТВЕННЫХ МЕМБРАННЫХ ВЕЗИКУЛ

В.М. Украинская, А.В. Степанов *Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва*

Развитие CAR-T терапии привело к немедленному успеху в лечении В-клеточных лейкозов и лимфом. Это также открыло возможности для разработки новых методов, направленных на лечение солидных опухолей. Производство функциональных CAR-T клеток требует надежных протоколов для *ex vivo* / *in vitro* экспансии модифицированных T-клеток. Этот шаг является непростым, особенно если для создания CAR-T клеток используются невирусные протоколы доставки с низкой эффективностью. Современные протоколы размножения CAR-T клеток основаны на инкубации с высокими дозами рекомбинантных цитокинов для поддержания пролиферации, неспецифической стимуляции поверхностными антителами для индукции перекрестного связывания TCR или ко-культивирования с антиген-экспрессирующими питающими клеточными линиями. Эти подходы несовершенны, поскольку неспецифическая стимуляция приводит к быстрому разрастанию CAR-отрицательных T-клеток, а удаление питающих клеток из смешанных культур требует дополнительных стадий очистки. Пытаясь разработать улучшенный протокол для CART клеточной экспансии, мы воспользовались преимуществами клеточных мембранных везикул и простыми структурными требованиями взаимодействия CAR с антигеном. Наш подход заключался в создании антигенных микросфер из обычных клеточных линий, стабильно экспрессирующих поверхностно-связанные антигены CAR (антигенные везикулы, AV), и последующее их использование для стимуляции и экспансии CAR-T клеток. Мы разработали быстрый, эффективный и недорогой способ для создания, стабилизации и очистки антигенных везикул. В качестве доказательства концепции мы протестировали специфичность наших везикул на нескольких парах CAR-антиген. Данные, представленные в этой работе, демонстрируют, что наш протокол производства антигенных везикул позволяет вызывать более сильную стимуляцию, пролиферацию и функциональную активность CAR-T клеток, по сравнению с уже существующими протоколами. Мы прогнозируем, что эта новая методология значительно улучшит возможность получения популяций функциональных CAR-T клеток для терапии. *Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 192904087_мк.*

ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ПУТЕЙ БИОСИНТЕЗА NAD В ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ МЫШИ E14 В ПЛЮРИПОТЕНТНОМ И ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОМ СОСТОЯНИИ

М.В. Антипова¹, В.А. Куликова¹, М.П. Светлова¹, К.Б. Нериновский², А.П. Якимов^{1,3}, А.А. Никифоров¹

¹Институт цитологии РАН; ²Санкт-Петербургский государственный университет; ³Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург

Никотинамидадениндинуклеотид (NAD) играет ключевую роль в клеточном метаболизме и сигналинге. Известно, что NAD-зависимые процессы принимают участие в регуляции плюрипотентности и дифференцировки эмбриональных стволовых клеток млекопитающих. Оптимальная концентрация NAD в клетках поддерживается путем его биосинтеза из различных предшественников. В данной работе, используя модель эмбриональных стволовых клеток мыши (мЭСК) E14 и метод количественной оценки метаболитов ЯМР-спектроскопией, мы охарактеризовали различия метаболического профиля мЭСК E14 в плюрипотентном и дифференцированном состоянии. Для поддержания плюрипотентности мЭСК E14 в среду добавляли фактор LIF, для запуска дифференцировки – ретиноевую кислоту. Мы показали, что концентрация тотального NAD в плюрипотентных клетках составляет 134,6 нмоль/мг, через 48 часов после запуска дифференцировки – 177,5 нмоль/мг, через 96 часов – 101,3 нмоль/мг. Чтобы оценить эффективность деамидированного и амидированного путей биосинтеза NAD, клетки инкубировали в стандартной среде с никотинамидом (Nam) в качестве единственного предшественника NAD. Чтобы подавить синтез NAD из Nam клетки обрабатывали ингибитором фермента NamPRT – FK866, что приводило к резкому снижению уровня NAD. Добавление амидированных (NR, NMN) предшественников к клеткам, обработанным FK866, восстанавливало NAD до контрольного уровня. После добавления деамидированных (NA, NAR) предшественников мы наблюдали накопление динуклеотида NAAD, который принимает участие во всех деамидированных путях синтеза NAD. Однако рост уровня NAD наблюдался незначительный. На основании этих данных можно предположить, что в мЭСК E14 активность фермента NADS, который катализирует образование NAD из NAAD, подавлена, что приводит к накоплению NAAD. Важно отметить, что значительное накопление NAAD также наблюдалось в плюрипотентных мЭСК E14, культивируемых в присутствии Nam, и без добавления деамидированных предшественников. Уровень NAAD падал в процессе дифференцировки и уже через 96 часов после добавления ретиноевой кислоты данный динуклеотид не детектировался. Возможно, NAAD в плюрипотентных клетках синтезируется по кинурениновому пути из триптофана через хинолиновую кислоту. *Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 21-14-00319).*