
РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
РОССИЙСКИЙ ФОНД ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ
РОССИЙСКОЕ ОБЩЕСТВО БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ ИМ. АКАДЕМИКОВ
М.М. ШЕМЯКИНА И Ю.А. ОВЧИННИКОВА РАН

НАУЧНЫЕ ТРУДЫ

ОБЪЕДИНЁННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ

**МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
ПО БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
«XII ЧТЕНИЯ ПАМЯТИ АКАДЕМИКА
ЮРИЯ АНАТОЛЬЕВИЧА ОВЧИННИКОВА»**

**VIII РОССИЙСКИЙ СИМПОЗИУМ
«БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ»**

*Под редакцией
В.Т. Иванова, А.Г. Габимова*

Москва, Россия
18–22 сентября 2017

УДК 57
ББК 28.4я43
Д23

Под редакцией
академика В.Т. Иванова и академика А.Г. Габимова

**Д23 МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
ПО БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ «XII ЧТЕНИЯ ПАМЯТИ
АКАДЕМИКА ЮРИЯ АНАТОЛЬЕВИЧА ОВЧИННИКОВА»
И VIII РОССИЙСКИЙ СИМПОЗИУМ «БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ»
(Москва, ИБХ РАН, 18–22 сентября 2017. – М. : Издательство «Перо»,
2017. – 192 с.**

ISBN 978-5-906988-33-1

Сборник научных трудов включает материалы актовых и пленарных лекций, симпозиальных докладов, выступлений на заседаниях круглых столов и стендовых докладов, представленных на Международной научной конференции по биоорганической химии «XII чтения памяти академика Юрия Анатольевича Овчинникова» и VIII Российском симпозиуме «Белки и пептиды», состоявшихся в рамках единого научного форума Москве 18–22 сентября 2017 года.

Тематика представленных докладов охватывает актуальные разделы биоорганической химии, биотехнологии, молекулярной биологии и смежных дисциплин, в том числе:

- Поиск и выделение новых природных пептидов и белков. Пептидомика. Протеомика
- Биологические функции и механизмы действия пептидов и белков
- Пептидный синтез. Белковая инженерия
- Физико-химические методы исследования структуры пептидов и белков. Взаимосвязь «структура – функция»
- Химия и биология ферментов
- Инновационные лекарственные средства на основе пептидов и белков
- Биотехнология
- Биоинженерия растений
- Ионные каналы и рецепторы нервной системы: структура, физиология и болезни

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.

УДК 57
ББК 28.4я43
© Коллектив авторов, 2017

ISBN 978-5-906988-33-1



стует расстоянию между активными центрами в каталитически активном тетрамере Dnmt3a. Был создан ДНК-субстрат для тестирования активности Dnmt3a с двумя CpG на указанном расстоянии. В обе последовательности CpG предварительно ввели по одной метильной группе в противоположные цепи в соответствии с необходимым для метилирования расположением цитозин-мишеней в комплексе Dnmt3a с ДНК. МЗ-эндонуклеаза KfoI может иметь лишь ограниченное применение для определения активности Dnmt3a ввиду неполного расщепления метилированного субстрата. В отличие от традиционных методов определения активности МТаз, основанных на использовании радиоактивно меченного S-аденозил-L-метионина, данный метод является надежным, простым в исполнении и недорогим. В перспективе имеется принципиальная возможность одновременного использования МТазы и эндонуклеазы, что может быть осуществлено в ходе дальнейшей оптимизации метода. *Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-01087.*

Литература

1. Землянская Е.В., Дегтярев С.Х. 2013. Субстратная специфичность и свойства метилзависимых сайт-специфических ДНК-эндонуклеаз. Молекулярная биология. 47, 900-913.

РЕКОМБИНАНТНАЯ DPP 4 *TENEBRIO MOLITOR*: ПОЛУЧЕНИЕ, СВОЙСТВА И СПОСОБНОСТЬ ГИДРОЛИЗОВАТЬ ТОКСИЧЕСКИЕ ПЕПТИДЫ ГЛИАДИНОВ

В.Ф. Терещенкова¹, Е.В. Клячко², С.В. Беневоленский², М.А. Белозерский³, Я.Е. Дунаевский³, И.Ю. Филиппова¹, Е.Н. Элпидина³
¹Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова; ²Институт биохимии имени А.Н. Баха РАН; ³НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Tenebrio molitor – вредитель запасов зерновых культур. Его основными пищевыми белками являются глиадины – главные запасные белки семян пшеницы. В состав глиадинов входят до 30% остатков пролина и до 50% остатков глутамина. Это обуславливает наличие пролин-специфичных пептидаз (PSP) в комплексе пищеварительных ферментов *T. molitor*. Среди них главной пищеварительной PSP является дипептидилпептидаза 4 (DPP 4), которая входит в состав подсемейства S9B сериновых пептидаз по классификации MEROPS. DPP 4 отщепляет Хаа-Pro дипептиды от N-конца пептидной цепи любой длины, тем самым участвуя в деградации и регуляции активности пролин-содержащих белков и пептидов. В экспрессионной системе *Pichia pastoris* нами впервые получен рекомбинантный препарат DPP 4 *T. molitor* (rTmDPP4). Выход белка после очистки с использованием аффинной хроматографии на Ni²⁺-НТА сефарозе составил 44 мг/л. Для очищенного препарата rTmDPP4 изучена электрофоретическая подвижность в нативных и денатурирующих условиях, последовательность фермента подтверждена масс-спектрометрически и совпадает с первичной структурой наиболее высокоэкспрессируемой пищеварительной DPP 4 *T. molitor*. Показано, что оптимум работы фермента находится в области pH 8, интервал pH-стабильности – от 6 до 9. Проведено сравнительное изучение субстратной специфичности rTmDPP4 и рекомбинантной DPP 4 человека. На примере гидролиза дипептидных субстратов общей формулы Хаа-Pro-pNA (Хаа = Arg, Ala, Gly; pNA – остаток *para*-нитроанилина) выявлена предпочтительность rTmDPP4 к Arg-содержащему субстрату, тогда как эффективность расщепления всех исследованных субстратов рекомбинантным ферментом человека одинакова. Впервые обнаружена способность rTmDPP4 гидролизовать фрагменты токсических пептидов глиадинов. С использованием 10-членного пролин- и глутаминсодержащего пептида показана большая эффективность его гидролиза rTmDPP4, чем рекомбинантной DPP 4 человека.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ совместно с Фондом «Национальное интеллектуальное развитие»: 17-34-80158 мол_эв_а; грантов РФФИ: 16-34-01012 мол_а, 15-04-08689-а, 15-03-06675-а; гранта Фонда содействия инновациям (FASIE): УМНИК 8874ГУ/2015 (0018984).

НОВЫЙ ИНГИБИТОР ТЕРМОЛИЗИНПОДОБНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕАЗ

К.Н. Чухонцева, И.С. Лемескина, Д.Р. Сафина, И.В. Демидюк
Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

Термолизинподобные протеазы – семейство протеолитических ферментов, представители которого широко распространены у эу- и архебактерий, а также встречаются у грибов. Семейство включает две группы. Представители первой близки к термолизину и, по-видимому, выполняют преимущественно трофические функции. Прототипом второй группы является протеализин – металлопротеаза бактерии *Serratia proteamaculans*. Многие микроорганизмы, продуцирующие протеализинподобные протеазы (ППП), являются симбионтами или патогенами растений и животных, некоторые – способны вызывать заболевания человека. Имеющиеся данные указывают на участие ППП во взаимодействии бактерий с высшими организмами, однако биологические функции этих ферментов изучены мало. Нами проведен анализ геномов микроорганизмов, продуцирующих ППП, и обнаружено, что во всех бактериальных геномах за геном ППП следует ген небольшого консервативного гипотетического белка – белка, ассоциированного с протеализином (БАП). Детальный анализ областей геномов, в которых локализованы гены ППП и белков, подобных БАП, показал, что эти гены организованы в оперон. Таким образом, ППП и ассоциированные с ними белки, по-видимому, выполняют общую функцию. Для характеристики БАП нами в клетках *E. coli* получен рекомбинантный белок из *S. proteamaculans* и впервые показано, что БАП является эффективным ингибитором протеализина: константа связывания, определенная с помощью изотермической калориметрии титрования, составляет $2 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$. Также было установлено, что БАП способен ингибировать термолизин. Кроме того, с использованием метода иммуноблоттинга было продемонстрировано, что в *S. proteamaculans* БАП имеет внутриклеточную локализацию. Таким образом, нами впервые установлено, что гены ППП у бактерий входят в состав оперонов, включающих также гены новых ингибиторов термолизинподобных протеаз. Полученные результаты, по-видимому, указывают на существование неизвестного механизма регуляции активности ППП бактериальной клеткой.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-04-01048.



**МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
ПО БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
«XII ЧТЕНИЯ ПАМЯТИ АКАДЕМИКА
ЮРИЯ АНАТОЛЬЕВИЧА ОВЧИННИКОВА»
И VIII РОССИЙСКИЙ СИМПОЗИУМ «БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ»
(МОСКВА, ИБХ РАН, 18–22 СЕНТЯБРЯ 2017)**

Содержание

Актовые лекции	3
Пленарные лекции	3
Пленарные доклады	9
Ионные каналы и рецепторы нервной системы: структура, физиология и болезни	13
Биоинженерия растений	15
Поиск и выделение новых природных пептидов и белков. Пептидомика. Протеомика	17
Биологические функции и механизмы действия пептидов и белков	35
Пептидный синтез. Белковая инженерия	87
Физико-химические методы исследования структуры пептидов и белков. Взаимосвязь «структура – функция»	93
Химия и биология ферментов	119
Инновационные лекарственные средства на основе пептидов и белков	146
Биотехнология	166
Авторский указатель	185

Издательство «Перо»
109052, Москва, Нижегородская ул., д. 29-33, стр. 15, ком. 536
Тел.: (495) 973-7228, (495) 665-3436
Подписано в печать 10.08.2017. Формат 60×90/8.
Печать офсетная. Усл. печ. 24 л. Тираж 1000 экз. Заказ 529.