

**Министерство науки и высшего образования
Российской Федерации
Государственный научный центр
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
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 300-ЛЕТИЮ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

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

Москва, 7-9 февраля 2024 г.

**XXXVI INTERNATIONAL WINTER SCHOOL FOR YOUNG
SCIENTISTS "CURRENT TRENDS IN PHYSICOCHEMICAL
BIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY"**

Moscow, February 7-9, 2024



СБОРНИК ТЕЗИСОВ

**Под редакцией
д.х.н. Т.В. Овчинниковой**

Министерство науки и высшего образования
Российской Федерации
Государственный научный центр
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
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 300-ЛЕТИЮ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

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

Москва, 7-9 февраля 2024 г.

**XXXVI INTERNATIONAL WINTER SCHOOL FOR YOUNG
SCIENTISTS "CURRENT TRENDS IN PHYSICOCHEMICAL
BIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY"**

Moscow, February 7-9, 2024

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

**Председатель Программного комитета:
академик А.Г. Габибов**

**Председатель Организационного комитета:
д.х.н. Т.В. Овчинникова**

Составители:
Овчинникова Т.В., Шереметьева Э.В.

Компьютерная верстка: Яковлева Т.И.

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

СЕКЦИЯ 1

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ПЕПТИДОВ И БЕЛКОВ. БИОКАТАЛИЗ

1.1. АНТИМИКРОБНЫЙ ПЕПТИД ИЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КРАБА-СТРИГУНА (*CHIONOECETES OPILIO*)

Анисимов Н.Р.^{1,2}, Молчанов В.Г.^{1,3}, Егоров А.Е.¹, Новиков В.Ю.⁴, Тимченко М.А.¹

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино

²Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева, Орел

³ИАТЭ НИЯУ "МИФИ", Обнинск

⁴ПИНРО, Мурманск

dfvgh500@yandex.ru

Основными промысловыми видами крабов в России являются камчатский краб (*Paralithodes camtschaticus*) и краб-стригун (*Chionoecetes opilio*). Несмотря на то, что оба относятся к отряду *Decapoda* краб-стригун является истинным крабом, в то время как камчатский краб относится к крабоидам и больше похож на раков. К настоящему времени сведения о структуре и функциях бактериолитических ферментов этих краба отсутствуют, любые исследования в этой области представляют научный интерес, так как вносят вклад в понимание того, каким образом реализуется у них иммунная защита и какие белки играют в ней важную роль. Гепатопанкреас краба, представляющий собой отходы промысла, является ценным источником антимикробных пептидов (АМП), которые могут рассматриваться в качестве природных "антибиотиков". Ранее нами был обнаружен АМП (~5кДа) в гепатопанкреасе камчатского краба [1], который проявлял высокую активность в отношении грамположительных микроорганизмов.

Целью настоящей работы был поиск АМП в гепатопанкреасе краба-стригуна. Для работы из ацетонового порошка гепатопанкреаса краба были получены препараты низкомолекулярных белковых фракций экстракцией ацетонитрилом с трифторуксусной кислотой и экстракцией дитиотреитолом с муравьиной кислотой [1]. Для поиска возможного АМП был использован метод зимографии. В качестве субстрата использовалась клеточная стенка *M.lysodeikticus*. Для сравнения использовались полученные таким же способом экстракты из гепатопанкреаса камчатского краба. Было обнаружено, что в экстрактах краба-стригуна действительно присутствует пептид с молекулярной массой 3-5 кДа, способный расщеплять клеточную стенку грамположительной бактерии, причем его молекулярная масса была немного меньше, чем у АМП камчатского краба. Следует отметить, что выход пептида, полученного обоими способами экстракции, практически не отличался. Таким образом, обнаруженный у краба-стригуна в гепатопанкреасе АМП несомненно требует дальнейшего изучения и может рассматриваться в качестве основы для создания природных "антибиотиков" для их использования как в качестве консервантов в пищевой промышленности, так и в медицине.

Работа поддержана грантом РНФ №23-24-00278.

Литература:

1. Molchanov V, Yegorov A, Molchanov M, Timchenko A, Novikov V, Novojilov N, Timchenko M. Novel Antimicrobial Peptide from the Hepatopancreas of the Red King Crab. International Journal of Molecular Sciences. 2023; 24(21):15607. <https://doi.org/10.3390/ijms242115607>

1.2. ТРИФЕНИЛФОСФОННИЕВЫЕ АНАЛОГИ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА АПИДЕЦИНА: АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ И МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ

Бажутов Ф.Р.¹, Терещенков А.Г.^{1,2}

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

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Москва
filipp.2018@mail.ru

Проблема антибиотикорезистентности ощущается с каждым годом всё сильнее. Большинство традиционных препаратов исчерпало свои возможности для модификации, поэтому задача по поиску новых типов антимикробных веществ выходит на первый план. Многообещающим классом таких соединений выступают пептиды. Один из перспективных антимикробных пептидов - 18-членный пролин-богатый апидецин (Ari), обладает крайне редким механизмом действия. Он ингибирует бактериальную трансляцию, связываясь в рибосомном туннеле и удерживая фактор терминации (RF1, RF2) и тРНК от диссоциации. Ari показывает высокую активность против грамотрицательных бактерий, однако неэффективен относительно грамположительных.

Целью нашей работы было изучение антибактериальной активности и механизма действия ряда производных антимикробного пептида апидецина различной длины и модифицированных алкилтрифенилфосфониевым (алкил-TPP) остатком, легко проникающим через клеточные мембраны.

Исследование антибактериальной активности выявило, что полученные конъюгаты проявляют антимикробный эффект как к грамотрицательным, так и грамположительным бактериям. Некоторые из производных оказались активны в отношении резистентных к Ari штаммов *E. coli*, имеющих делеции генов транспортного белка SbmA и порына OmpF. Для изучения механизма действия модифицированных пептидов был получен флуоресцентно меченный аналог Ari с помощью метки BODIPY. Методом конкурентного связывания BODIPY-Ari и изучаемых соединений с бактериальными 70S рибосомами было показано, что введение в структуру пептидов TPP-группы увеличивает их аффинность. Тестирование соединений в бесклеточной системе транскрипции-трансляции показало их улучшенную способность ингибировать процесс биосинтеза белка по сравнению с исходным пептидом Ari.

Таким образом, модифицированные пептиды сохранили исходный механизм действия и благодаря алкил-TPP группировке получили дополнительные свойства как антибактериальные соединения.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 23-24-00247.

1.3. БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АНАЛОГОВ ГРИБНОГО ЛЮЦИФЕРИНА

Барыкин А.Д., Гороховатский А.Ю., Каськова З.М., Андрианова А.А.,
Фадеева А.А., Ямпольский И.В.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
barykin.AD@phystech.edu

Изучение грибной биолюминесценции ведется уже некоторое время, но подробный механизм взаимодействия люциферина и люциферазы до сих пор не выяснен полностью. Химическое окисление люциферина молекулярным кислородом катализируется ферментом люциферазой и приводит к свечению. Интенсивность, спектр и другие свойства люциферин/люциферазной реакции могут быть изменены путем замены люциферина на его структурные аналоги. В данной работе мы сообщаем об относительной яркости, спектрах биолюминесценции и константах Михаэлиса (K_m) реакции некоторых синтетических аналогов люциферина с люциферазой высших грибов.

Мембранная фракция, содержащая рекомбинантную люциферазу *N. nambi*, была получена из экспрессирующего люциферазу штамма *P. pastoris*. Каждый аналог проходил следующую процедуру: 1. Измерялась относительная активность субстрата по сравнению с люциферинном. 2. В случае светоизлучающих аналогов определялись K_m и спектры биолюминесценции. 3. В случае не излучающих свет аналогов определялась константа ингибирования люциферин/люциферазной реакции по аналогу.

Две идеи были подтверждены на широком круге субстратов: 1) наличие электрон-донорной группы в пара-положении во втором кольце молекулы люциферина приводит к более яркой реакции; 2) увеличение длины сопряженной цепи приводит к красному сдвигу в более длинноволновую область спектра биолюминесцентной реакции. Мы впервые показываем, что гиспидин (предшественник люциферина), оксилуциферин (продукт ферментативного окисления) и все аналоги, не излучающие свет, являются сильными ингибиторами люциферин/люциферазной реакции. Настоящее исследование важно для будущего определения положения активного центра люциферазы с различными субстратами, которое, как мы надеемся, поможет детально описать механизм реакции.

Исследование выполнено за счет гранта РФФИ № 22-44-02024, <https://rscf.ru/project/22-44-02024>.

1.4. ВЛИЯНИЕ МУТАЦИИ НА СТРУКТУРУ И ДИНАМИКУ ТРАНСМЕМБРАННОГО ДОМЕНА РЕЦЕПТОРА ПОДОБНОГО ИНСУЛИНОВОМУ

**Бершацкий Я.В.^{1,2}, Гавриленкова А.А.^{1,2}, Бочарова О.В.¹, Надеждин К.Д.¹,
Серова О.В.¹, Деев И.Е.¹, Бочаров Э.В.^{1,2}**

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

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

Подсемейство рецепторов инсулина, одно из 20 подсемейств рецепторных тирозинкиназ (РТК), включающее в себя рецептор инсулина (IR), рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF1R) и рецептор подобный инсулиновому (IRR). Нарушение функции рецепторов связано с развитием таких заболеваний как диабет, рак и болезнь Альцгеймера. Несмотря на высокую взаимную гомологию последовательности и структуры, локализация, экспрессия и функции рецепторов подсемейства сильно различаются.

В структуре РТК выделяют 3 домена: лиганд-связывающий внеклеточный домен, трансмембранный домен (ТМ) и каталитический внутриклеточный домен. Структура семейства рецепторов инсулина выделяется среди других РТК. Мономеры рецепторов подсемейства состоят из двух полипептидных цепей, соединенных дисульфидной связью. В мембране клетки рецепторы существуют исключительно в форме ковалентно связанных димеров.

В этой работе мы изучили влияние мутаций на конформацию ТМ домена IRR с помощью гетероядерной ЯМР-спектроскопии высокого разрешения. Нами были установлены пространственные структуры, описана внутримолекулярная динамика димеризация ТМ доменов дикого типа и мутантной формы IRR в мембрано-подобной среде, мицеллах детергента. Анализ данных показал, что внесение мутаций изменило не только структуру ТМ домена, но и параметры движений. Это может объяснять характерные различия в активации и передаче сигнала, показанные на клеточных культурах для мутантной формы IRR.

ЯМР-исследования и биотехнологические работы были поддержаны Российским научным фондом (проект № 23-74-00024).

1.5. СИНТЕЗ И СВОЙСТВА ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОЗИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ ЛИПОФИЛЬНЫЙ ХИРАЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ

Борох В.Н.^{1,2}, Козлова А.А.¹, Конкина М.А.^{1,2}, Алексеев К.С.¹, Дреничев М.С.¹, Ословский В.Е.¹, Зенченко А.А.¹, Липатова А.В.¹, Савельева Е.М.³, Романов Г.А.³

¹Институт молекулярной биологии В.А. Энгельгардта РАН, Москва

²РТУ МИРЭА, Институт тонких химических технологий им.

М.В. Ломоносова, кафедра химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии им.

Н.А. Преображенского, Москва

³Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва

borokhvalya@gmail.com

Интерес к разработке новых методов получения пуриновых нуклеозидов, содержащих липофильный углеводородный заместитель, заключается в их способности к связыванию с рядом белковых мишеней, таких как полимеразы нуклеиновых кислот вирусов, рецепторы пуринэргической сигнальной системы животных и цитокининовые рецепторы у растений. Введение оптически активных фрагментов в состав нуклеозидов и оснований может повысить селективность связывания с молекулами-мишенями и усилить их фармакологическое действие.

В настоящей работе были получены пуриновые нуклеозиды рибо- и дезоксирибоза, содержащие в положении 6 пуринового остатка оптически активный α -фенилэтильный хиральный фрагмент. Синтез α -фенилэтилзамещенных рибонуклеозидов осуществлялся, исходя из ВОР-активированного 2',3',5'-три-О-изобутироилинозина в присутствии небольшого избытка R/S- α -фенилэтиламина. Используемый подход позволил получать целевые производные с высокими выходами (66-71%) в мягких условиях, а выбор защитной группы обеспечивал ее устойчивость в реакции введения α -фенилэтильного остатка и легкость ее удаления в условиях аминолиза. Синтез α -фенилэтилзамещенных дезоксианалогов был осуществлен по реакции ферментативного транс-гликозилирования, катализируемой нуклеозидфосфорилазой *E. coli* (НФ), исходя из 6-(R/S- α -фенилэтил)пуринов и разных нуклеозидных гликозил-доноров. В ходе работы были подобраны оптимальные гликозил-доноры и соотношения реагентов и изучена стереоселективность ферментативной реакции транс-гликозилирования. Была показана возможность применения нуклеозиддеоксирибозилтрансферазы Lac.I. NDTII для синтеза липофильных производных нуклеозидов. В ряду полученных нуклеозидов были обнаружены соединения, обладающие антицитокининовой и противовирусной активностью.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 21-14-00346).

1.6. СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ Stx-ФАГА Ф24_в

Бубенчиков М.А.¹, Моисеенко А.В.¹, Кузнецов А.С.², Куликов Е.Е.²,
Летаров А.В.², Соколова О.С.¹

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

²Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ "Фундаментальные
основы биотехнологии" РАН, Москва
matveybubenchikov@yandex.ru

Бактериофаги, кодирующие токсин Шига (Stx-фаги), ответственны за преобразование патогенных профилей своих бактериальных хозяев. Энтерогеморрагическая кишечная палочка (ЕНЕС), продуцируя токсин Шига, может вызывать тяжелые заболевания (кровавая диарея и геморрагический колит). Токсин Шига закодирован в геноме Stx-фагов и экспрессируется в ходе цикла литической репликации. Хотя сегодня глобальная заболеваемость ЕНЕС-инфекцией невелика, тяжелые формы и смерть случаются у довольно высокой доли инфицированных: 10% и 3-5%, соответственно.

Большинство Stx-фагов относятся к лямбдоидным бактериофагам. Бактериофаг vB_EcoP-24_в, несущий вариант токсина Шига 2 (Stx2), был хорошо охарактеризован с момента его первоначальной очистки после индукции из клинического изолята *E. coli* O157:H7, а его геном аннотирован, было проведено сравнение с родственными фагами. Однако, структурная организация данного фага до сих пор не была изучена, а значительная часть структурных белков, кодируемых геномом 24_в, не имеют опубликованных гомологичных структур.

С помощью криоэлектронной микроскопии нам удалось получить трехмерную реконструкцию препарата Stx-фага 24_в в виде карты плотности с высоким разрешением (4Å). Сегментировав карту плотности, мы выявили основные структурные компоненты бактериофага и идентифицировали гены-кандидаты, кодирующие соответствующие им белки. Трехмерная организация этих белков, предсказанная с помощью AlphaFold2 (ColabFold), хорошо коррелирует с полученной нами реконструкцией бактериофага 24_в.

На основании полученных данных будут построены атомные модели структурных компонентов бактериофага 24_в с околоатомным разрешением.

1.7. АНАЛИЗ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ МУТАНТНЫХ ФОРМ ИНСУЛИНОПОДОБНОГО ФАКТОРА РОСТА (IGF-IR)

Гавриленкова А.А.^{1,2}, Деев И.Е.², Бочаров Э.В.^{1,2}, Серова О.В.²

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

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
alycat1008@gmail.com

Рецептор инсулиноподобного фактора роста (IGF-IR) - это рецепторная тирозинкиназа, которая активируется инсулиноподобными факторами роста 1 и 2, а также инсулином, но в меньшей степени, и играет ключевую роль в росте, дифференцировке и старении клеток. IGF-IR состоит из 3-х частей: внеклеточной части, которая отвечает за связь с лигандом, трансмембранного домена (ТМ), и внутриклеточной части, участвующей в фосфорилировании субстратов. На данный момент точные механизмы активации и передачи внутриклеточного сигнала семейства рецепторов инсулина не известны. Предполагается, что в неактивном состоянии ТМ-домены рецептора инсулиноподобного фактора роста находятся в конформации, препятствующей взаимодействию цитоплазматических частей молекулы. При связывании лиганда, конформация рецептора меняется, в результате внутриклеточные тирозинкиназные домены сближаются и фосфорилируют друг друга, вызывая клеточный ответ.

Для того чтобы изучить роль трансмембранного домена в активации рецептора IGF-IR, нами были получены мутантные формы рецептора, содержащие двойные замены в трансмембранном домене. Клетки линии HEK293 трансфицировали плазмидными конструкциями, кодирующими мутантные формы IGF-IR с заменами V941E-A942R; V948E-G949R; G949E-G950R. Затем клетки инкубировали в среде F-12, с добавлением инсулина. Клеточные лизаты анализировали методом вестерн-блота с антителами к фосфорилированной и общей форме рецептора. В результате мутантные формы IGF-IR V941E-A942R и V948E-G949R не экспрессировались в клеточной линии HEK293. Двойная замена G949E-G950R приводила к фосфорилированию рецептора в отсутствие лиганда в отличие от рецептора дикого типа. Мы предполагаем, что двойная замена G949E-G950R приводит к стабилизации димера рецептора в активной конформации, за счет образования солевых мостиков в трансмембранном домене.

Исходя из полученных данных, мы можем сделать вывод о том, что трансмембранный домен играет важную роль в активации IGF-IR, и даже точечные замены в его аминокислотной последовательности, могут приводить к изменению характера активации рецептора.

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

1.8. РЕКОМБИНАНТНАЯ ДЕКСТРАНАЗА - АГЕНТ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ БИОКОНВЕРСИИ КОМПОНЕНТОВ ЗУБНОГО НАЛЕТА

Гапеев К.В.¹, Чиканова Е.С.¹, Волков П.В.^{1,2}

¹Университет науки и технологий МИСИС, Москва

²ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

gapееv638@gmail.com

Сегодня проблема высокого распространения и интенсивности кариеса, а также развития зубного камня остается важной и актуальной. По статистике отчета ВОЗ 2022 года в России кариесом постоянных зубов страдают от 41% до 50% людей [1]. Одной из основных причин возникновения кариеса являются бактериальные нанопленки ("biofilms"), которые не только участвуют в деградации зубной ткани, но и препятствуют полному и эффективному действию зубных паст и ее компонентов в процессе механической чистки полости рта.

Актуальность исследования продиктована необходимостью увеличения эффективности зубных паст посредством введения в их состав ферментов, способствующих в физиологических условиях к биодеградации компонентов биопленок, что, в свою очередь, позволит ускорить доступ активных компонентов паст к поверхности зубной ткани.

Цель настоящего исследования заключается в изучении механизма и условий разрушения компонентов нанопленок *in vitro* под действием одного из ферментов - рекомбинантной грибной декстраназы (К.Ф. 3.2.1.11), специфичного по отношению к α -1,6-гликозидным связям, лежащим в основе химической связи полимера - декстрана, синтезируемого на поверхности зубов бактерией *Streptococcus mutans* [2].

Оценку накопления общих восстанавливающих сахаров (ВС) и глюкозы, высвобождаемых вследствие ферментативного гидролиза нанопленки, проводили с использованием модифицированного метода Шомоди-Нельсона и глюкозооксидазно - пероксидазного метода, соответственно. Для проведения эксперимента *in vitro* использовали модельные растворы слюны с пересыщением по двуводному гидрофосфату кальция S=3 и 5 [3].

В результате эксперимента, опытным путем подобрана схема проведения гидролиза декстрана (один из основных бактериальных полисахаридов, откладываемых бактериями в структуру нанопленки) *in vitro* в модельном ионно-электролитном растворе слюны человека при физиологическом значении pH=7 и температуре, T=37°C. Исследована кинетика накопления глюкозы и ВС.

Данные, полученные в нашей работе, позволили определить время необходимое для наиболее эффективной биоконверсии зубного налета, а также оптимальную концентрацию ферментного препарата. Исследование позволило определить возможность использования рекомбинантного фермента декстраназы грибного происхождения в стоматологических композициях в роли неабразивных средств против кариеса.

Литература:

1. Global oral health status report: towards universal health coverage for oral health by 2030, WHO, ISBN 978-92-4-006148-4 (electronic version)
2. Pavel V Volkov, Alexander V Gusakov, Ekaterina A Rubtsova, Alexandra M Rozhkova, Veronica Yu Matys, Vitaly A Nemashkalov, Arkady P Sinityn. Biochimie, 2019, 157, 123-130.
3. E. S. Chikanova, O. A. Golovanova, M. V. Kuimova. LNESS, 2016, No. 9783319249858, 501-515.

1.9. ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕОСТАЗА ПОЛНОРАЗМЕРНОГО МУТАНТНОГО ХАНТИНГТИНА В РАМКАХ КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ХАНТИНГТОНА

Готманова Н.Н., Бачева А.В.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва
got.nataliia@gmail.com

Болезнь Хантингтона (Гентингтона) - тяжелое наследственное неизлечимое нейродегенеративное заболевание, фундаментальным генетическим фактором которого является патологическая мутация в гене *HTT*, кодирующем хантингтин (Htt), повсеместно экспрессируемый белок массой около 350 кДа. Хантингтин содержит полиглутаминовый (полиQ-) тракт, кодируемый непрерывными CAG-тринуклеотидными повторами в первом экзоне *HTT*, и координирует ряд жизненно важных процессов в цитоплазме и ядрах нейронов благодаря своим структурным особенностям. Мутантный вариант хантингтина с удлинённым (более 35 CAG-повторов) полиQ-трактом склонен к образованию внутриклеточных агрегатов, в том числе, труднорастворимых. Последние способны вызвать протеостатический коллапс в нейронах, их дисфункцию и гибель по механизмам некроза либо апоптоза.

Механизмы утилизации агрегатов мутантного хантингтина посредством убиквитин-протеасомной системы, шаперонов и аутофагии являются предметом ряда современных исследований. Однако молекулярные события, связывающие образование агрегатов и возникновение дисбаланса протеостаза, а также причины протеотоксичности агрегированных форм мутантного хантингтина до сих пор детально не установлены. Кроме того, не исключено участие других внутриклеточных протеаз в процессах деградации полиглутаминовых последовательностей. В связи с этим всестороннее изучение протеостаза нормального и мутантного хантингтина в различных модельных системах остается актуальным и сегодня. Работа направлена на выявление особенностей функционирования протеолитической машинерии клетки в рамках созданной нами клеточной модели болезни Хантингтона, а также на определение способности протеасомы и других протеаз расщеплять белки и пептиды, содержащие удлинённые полиглутаминовые фрагменты. Для этого созданы модельные трансгенные клеточные линии Neuro2a с индуцибельной экспрессией нормального либо мутантного полноразмерного хантингтина. В рамках данных моделей показано влияние сверхэкспрессии форм хантингтина на типы активности протеасомы, а также на продукцию протеасомных субъединиц и регуляторов. Методом иммуноцитохимического окрашивания клеток продемонстрировано образование цитоплазматических и внутриядерных агрегатов мутантного хантингтина. Наличие хантингтина в составе данных агрегатов дополнительно подтверждено с помощью подхода filter trap assay. Применение подобных моделей для тестирования библиотек соединений может способствовать выявлению новых терапевтических средств, способных улучшить состояние пациентов с болезнью Хантингтона.

1.10. КОМПЬЮТЕРНЫЙ РЕДИЗАЙН КАТЕПСИНА L С ЦЕЛЮ ПОВЫШЕНИЯ ЕГО КИСЛОТНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ

Дюжева М.А.^{1,2}, Ефремов Р.Г.¹, Эллидина Е.Н.³, Чугунов А.О.¹

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

²РХТУ им. Д.И. Менделеева, Высший химический колледж РАН, Москва

³Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Москва
duzheva.maria@mail.ru

Целиакия - это редкое генетическое аутоиммунное заболевание, сопровождающееся атрофией слизистой оболочки тонкого кишечника и вызываемое непереносимостью богатого пролином и глутамином запасющего белка зерновых культур - глиадина (компонента глютена). Классический метод лечения - строгая безглютеновая диета, дорогостоящая и снижающая качество жизни пациента. Альтернативный подход основан на разработке и пероральном приеме пептидаз, которые расщепляют в желудке иммуногенные пептиды глиадина. Для этого подходят цистеиновые пептидазы из семейства С1 (папаина), но они наиболее активны при нейтральном и кислом рН, что не позволяет их использовать для этой цели. Перспективное направление - биоинженерный редизайн фермента с подходящей специфичностью для адаптации белка к кислой среде желудка человека (рН 2-4). Основная пищеварительная пептидаза жука *Tribolium castaneum* - катепсин L - гидролизует иммуногенные проламины после остатков глутамин, но нестабильна в кислой среде. В данной работе, используя моделирование молекулярной динамики (МД), мы выяснили вероятную причину ацидофобности катепсина L - значительное изменение каталитически важного ротамерного положения одного из остатков активного центра, His 275. Чтобы "зафиксировать" правильную ориентацию этого остатка, на основе анализа МД мы предложили мутантный вариант белка с заменой валина 277 на аланин. Экспериментальная проверка показала, что мутация увеличивает стабильность фермента в кислой среде, сохраняя при этом большую часть его активности [1]. Данный белок может рассматриваться как основа медицинского препарата для борьбы с непереносимостью глютена.

Литература

1. Chugunov A.O., Dvoryakova E.A., Dyuzheva M.A., Simonyan T.R., Tereshchenkova V.F., Filippova I.Yu., Efremov R.G., Elpidina E.N. (2023). Fighting Celiac Disease: Improvement of pH Stability of Cathepsin L In Vitro by Computational Design. Int. J. Mol. Sci. 24(15), 12369

1.11. ТРЕХПЕТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ ЧЕЛОВЕКА Lypd6A И Lypd6B ЯВЛЯЮТСЯ НЕГАТИВНЫМИ РЕГУЛЯТОРАМИ СТРУКТУРНОЙ И СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ МОЗГА

Исаев А.Б.^{1,2}, Кульбацкий Д.С.², Бычков М.Л.², Андреев-Андреевский А.А.³, Кирпичников М.П.^{2,4}, Люкманова Е.Н.^{1,2,4,5}

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

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

³Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

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

⁵Шеньчженьский МГУ-ППИ Университет, Шеньчжень, Китай
isaev.a@phystech.edu

Эндогенные белки человека Lypd6A и Lypd6B семейства Ly6/uPAR обладают высокой аминокислотной гомологией, локализованы на поверхности клеточной мембраны нейронов посредством GPI-якоря и модулируют работу никотиновых ацетилхолиновых рецепторов (nAChR). Lypd6A важен для формирования синаптических связей в мозге и для эмбриогенеза, регулируя Wnt/ β -катенин сигнальный каскад.

Цель работы - уточнение молекулярных мишеней нейромодуляторов Lypd6A и Lypd6B, изучение роли в механизмах нейрональной и синаптической пластичности в работе ЦНС.

В работе использованы рекомбинантные водорастворимые аналоги белков человека ws-Lypd6A и ws-Lypd6B, содержащие функциональный LU-домен, но лишенные GPI-якоря. Методами электрофизиологии в ооцитах *Xenopus laevis* показано ингибирующее действие Lypd6A на рецепторы $\alpha 7$ - и $\alpha 3\beta 4$ -nAChR, для Lypd6B - ингибирование $\alpha 3\beta 2$ - и $\alpha 4\beta 2$ -nAChR. На переживающих срезах гиппокампа мыши показано, что инкубация срезов с Lypd6A ингибирует $\alpha 7$ -nAChR и снижает долговременную потенцию (LTP), при этом Lypd6B не оказывает влияния на LTP, но усиливает кратковременную пресинаптическую пластичность (PPF). Инкубация первичных нейронов гиппокампа с Lypd6A и Lypd6B приводит к снижению числа дендритных шипиков (но не нейронов коры). Хроническое введение препаратов Lypd6A и Lypd6B в желудочки мозга мыши в течение 15-21 дней оказывает контекстно-зависимое анксиогенное (тревожное) действие и негативно влияет на обучение в тесте на распознавание нового объекта, но не влияет на моторную память. При этом, влияния терапии обоими препаратами на LTP не было выявлено.

Таким образом, белки Lypd6A и Lypd6B являются негативными модуляторами холинэргической системы мозга на молекулярном, морфологическом и когнитивном уровне.

1.12. ВЫЯВЛЕНИЕ ЭПИТОПОВ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СЕКРЕТИРУЕМОГО БЕЛКА ЧЕЛОВЕКА SLURP-1 С РЕЦЕПТОРОМ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА

Киселева Е.А.^{1,2}, Кукушкин И.Д.^{1,3}, Бычков М.Л.¹, Шлепова О.В.^{1,3},
Шулепко М.А.⁴, Кирпичников М.П.^{1,5}, Люкманова Е.Н.^{1,3,4,5}

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

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

³Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия

⁴Шеньчжэньский МГУ-ППИ Университет, Шэньчжэнь, Китай

⁵Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

eugeniakis2002@gmail.com

Секретируемый белок человека SLURP-1 входит в семейство трехпетельных белков Lys6/uPAR и, являясь негативным аллостерическим модулятором никотиновых ацетилхолиновых рецепторов $\alpha 7$ типа ($\alpha 7$ -nAChR), регулирует рост и дифференцировку кератиноцитов и контролирует воспаление и злокачественные трансформации клеток эпителия. SLURP-1 действует как супрессор опухоли, подавляя рост и миграцию раковых клеток. Ранее было доказано, что мишенью действия SLURP-1 в мембране эпителиальных клеток являются $\alpha 7$ -nAChR, а также, возможно, комплексы $\alpha 7$ -nAChR с рецептором тромбоцитарного фактора роста альфа (PDGFR α) и рецептором эпидермального фактора роста (EGFR). Кроме того, было показано, что участком молекулы SLURP-1, ответственным за взаимодействие с $\alpha 7$ -nAChR, является петля I. В то же время, было выдвинуто предположение, что остатки "головы" молекулы SLURP-1 важны для взаимодействия с тирозинкиназами.

В данной работе были получены мутантные варианты SLURP-1 с мутациями R74A и L76A в "голове" модулятора. Они были экспрессированы в клетках *E. coli* штамма SHuffle, далее была проведена очистка телец включения и ренатурация белков. Чистота и гомогенность рекомбинантных белков были подтверждены методами SDS-PAGE, HPLC и MALDI-MS, правильность пространственной структуры каждой партии полученных белков подтверждали методом ЯМР-спектроскопии. Для изучения взаимодействия SLURP-1 и его мутантных вариантов с EGFR в клетках HEK293 был экспрессирован полноразмерный EGFR. Методом проточной цитометрии было показано взаимодействие SLURP-1 с EGFR, а методом аффинной экстракции было выявлено негативное влияние мутаций R74A и L76A на взаимодействие SLURP-1 с EGFR. Таким образом, доказано взаимодействие SLURP-1 с EGFR и подтверждено, что интерфейс взаимодействия SLURP-1 с EGFR расположен в "голове" молекулы SLURP-1. Понимание структурных особенностей взаимодействия SLURP-1 с EGFR дает ценную информацию о молекулярных механизмах, лежащих в основе их биологических функций.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект №23-74-00040).

1.13. РЕКОМБИНАНТНАЯ ПРОДУКЦИЯ В КЛЕТКАХ *E. coli* ИНГИБИТОРА КАНАЛА TRPA1 - ТОКСИНА ProTx-I

Коваленко Е.А.^{1,2}, Mengdie Z.³, Шуленко М.А.³, Шенкарев З.О.^{1,4},
Люкманова Е.Н.^{1,2,3,4}

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

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

³Шеньчженьский МГУ-ППИ Университет, Шеньчжень, Китай

⁴Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия
evgeniy-kovalenko2016@mail.ru

Современные подходы к лечению хронической боли направлены на поиск естественных активных соединений, потенциально способных проявлять свойства анальгетиков. В качестве перспективного целевого белка для поиска таких соединений выступает TRPA1 - неселективный ионный канал, ответственный за восприятие в ноцицепторах болевых ощущений от химических и термических стимулов. Одним из пептидов, для которого показана способность ингибировать активность TRPA1, является protoxin-I (ProTx-I), впервые выделенный из яда *Thrixopelma pruriens*.

В исследованиях по изучению антагонистических свойств ProTx-I по отношению к TRPA1 показано, что токсин связывается с вольт-сенсор-подобным доменом (VSLD) канала TRPA1. Предположительно, образование комплекса ProTx-I с петлей S1-S2 VSLD ионного канала стабилизирует закрытую конформацию канала и значительно снижает ионный ток.

Однако, для изучения взаимодействия ProTx-I с ионным каналом TRPA1 методами ЯМР-спектроскопии необходимо иметь изотопно-меченые варианты токсина. Это обуславливает необходимость разработки системы рекомбинантной продукции токсина в клетках *E. coli*. Разработка протокола рекомбинантной продукции корректно свернутого ProTx-I (белок, содержащий 35 аминокислот, включает 3 дисульфидные связи) позволит расширить изучение свойств токсина в различных областях.

Для этой цели были получены экспрессионные векторы: *pET-22b/ProTx-I*, *pET-22b/6His/ProTx-I*, *pET-32a/GST/ProTx-I*. Первые два предполагают экспрессию белка с последующими этапами отмывки телец включения и ренатурации, последний - обеспечивает продукцию белка GST-6His-ProTx-I с замкнутыми дисульфидными связями. Проведенные эксперименты показывают, что эффективное получение ProTx-I, структура которого соответствует референсной, возможно только в системе с использованием "прямой" продукции токсина без гексагистидинового тага, выделением его из телец включения и с последующей ренатурацией в окислительных условиях без аргинина.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 22-14-00326).

1.14. СТРУКТУРА И ДИНАМИКА КОМПЛЕКСА АНТИТЕЛА REGN10987 И S-БЕЛКОВ ДЕЛЬТА- И ОМИКРОН-ВАРИАНТОВ SARS-CoV-2

Кочаровская М.В.^{1,2}, *Шенкарев З.О.*¹, *Пичкур Е.Б.*³, *Нольде Д.Е.*¹,
Кирпичников М.П.^{1,4}, *Люкманова Е.Н.*^{1,2,4,5}

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

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

³Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт", Москва Россия

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

⁵Университет МГУ-ППИ в Шэньчжэне, Шэньчжэнь, Китай
kocharovskaya.mv@phystech.edu

Для лечения и предотвращения заболеваемости коронавирусной инфекций (COVID-19), вызываемой разными штаммами вируса SARS-CoV-2, используются различные лекарственные средства, например, вакцины и терапевтические агенты на основе антител. Данные о том, как именно нейтрализующие антитела распознают разные штаммы SARS-CoV-2, являются ключевыми для процесса разработки лекарственных средств и вакцин от коронавирусной инфекции.

В настоящей работе методом криоэлектронной микроскопии была получена структура полноразмерного тримера S-белка дельта-варианта SARS-CoV-2 в комплексе с рекомбинантным аналогом антигенсвязывающего фрагмента (Fab) антитела REGN10987 с разрешением 2.3Å. Регионы связывания рецепторсвязывающих доменов S-белка (RBD) с Fab-фрагментами антитела REGN10987 (RBD/Fab) были получены с разрешением 3.2-3.4Å. Было показано, что два RBD S-белка находятся в 'down' состоянии, тогда как третий RBD находится в состоянии 'up'. В обеих конформациях RBD наблюдалось связывание Fab-фрагмента в области рецепторсвязывающего мотива (RBM), что блокирует распознавание и последующее связывание S-белка с рецептором ACE2. В процессе анализа вариативности комплекса была показана высокая подвижность участков RBD/Fab. Применение молекулярной динамики позволило объяснить различия, наблюдаемые между взаимодействием Fab с дельта- и омикрон-вариантами RBD.

Таким образом, проведенное исследование дает представление о вкладе известных мутаций в RBD как омикрон-варианта SARS-CoV-2, так и других штаммов, на способность вируса избегать связывания с антителом REGN10987. Полученные данные представляют большой интерес для разработки новых терапевтических антител.

1.15. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ, СВЯЗАННЫЕ С ГИДРОЛИЗОМ β -ЛАКТАМНЫХ АНТИБИОТИКОВ

Кривицкая А.В.¹, Хренова М.Г.^{1,2}

¹ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

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

al_krivickaya@mail.ru

Для β -лактамных антибиотиков превалирующими механизмами устойчивости являются модификация пенициллин-связывающих белков и инактивация антибиотиков бактериальными ферментами β -лактамазами. Оба эти процесса на примере реакции ингибирования пенициллин-связывающего белка 2 (PCB2) из *Neisseria Gonorrhoeae* антибиотиком цефтриаксоном и реакции инактивации антибиотика имипенема металло- β -лактамазами L1 и NDM 1 были рассмотрены методами молекулярного моделирования.

В работе выполнено молекулярное моделирование механизма реакции ингибирования PBP2 из штаммов FA19, 35/02 и H041 антибиотиком цефтриаксоном методом КМ/ММ молекулярной динамики. Показано, что появление аминокислотных замен в белке PBP2 приводит к ослаблению взаимодействий субстрата с оксианионным центром, что уменьшает эффективность нуклеофильной атаки - доля реакционных структур падает с ростом резистентности согласно анализу молекулярно-динамических траекторий фермент-субстратных комплексов. Также появление аминокислотных замен в целом приводит к изменению механизма реакции гидролиза. Разрыв связи C-N и отрыв фрагмента антибиотика происходит последовательно в белке из штамма дикого типа и одновременно в мутантных белках. Новое положение субстрата в каталитическом кармане также влечет за собой изменения сродства к антибиотик. Анализируя конформационные изменения петли β 3- β 4, показано, что с ростом резистентности сродство PCB2 к цефтриаксону понижается.

Изучены особенности строения фермент-субстратных комплексов L1 и NDM-1. Значимой структурной особенностью является разный аминокислотный состав петли 10, накрывающей активный центр в обоих ферментах. В L1 над активным центром находится гидрофобный жесткий аминокислотный остаток Pro226, что делает положение субстрата в активном центре структурно более жестким, малоподвижным. В NDM-1 над субстратом находится гибкий Gly219, вследствие чего активный центр NDM-1 более подвижен. Эти особенности строения обуславливают разницу в активации имипенема и ходе реакции. Енамин образуется как основной продукт в активном центре NDM-1 и как единственный продукт в активном центре L1. В NDM-1 за счет большей подвижности петли 10 в активный центр попадает вода, что определяет существование альтернативного пути реакции, который приводит к образованию (S)-имина. Анализ поведения продуктов ферментативной реакции в растворе показал, что более вероятна таутомеризация емина в (R)-имин. Полученные результаты согласуются с известными экспериментальными данными.

1.16. ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПРЕССИЯ, ОЧИСТКА И ХАРАКТЕРИСТИКА ГИСПИДИН-3-ГИДРОКСИЛАЗЫ ИЗ *ARMILLARIA OSTOYAE*

Кузнецова Д.А.¹, Чепурных Т.В.¹, Гороховатский А.Ю.¹, Варфоломеева Л.А.², Бойко К.М.², Шахова Е.С.¹, Случанко Н.Н.², Ямпольский И.В.¹

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

²ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт биохимии им. А.Н. Баха, Москва
KuznecovaDA@my.msu.ru

Биолюминесценция грибов порядка *Agaricales* возникает в клетках плодовых тел в результате окисления 3-гидроксигиспидина (люциферина грибов) при катализе люциферазой. Синтез люциферина осуществляет фермент гиспидин-3-гидроксилаза (НЗН), которая окисляет гиспидин до 3-гидроксигиспидина в присутствии NAD(P)H и молекулярного кислорода. НЗН относится к классу А флавинзависимых монооксигеназ и имеет всего лишь 29% идентичности по аминокислотной последовательности с ближайшим гомологом - салицилат-1-гидроксилазой. Установление трехмерной структуры НЗН позволит выяснить механизм реакции, катализируемой этим ферментом, и расширить практическое применение биолюминесцентной системы высших грибов.

Методами модульного клонирования (технология "GoldenGate") были собраны конструкции НЗН-GS(GGGGS)₅-(His)₁₀ и НЗН-TEV-(His)₁₀. Полученные генетические конструкции были использованы для экспрессии в клетках *P. pastoris*. Рекомбинантный фермент очищали с применением методов металл-хелатной и ионообменной хроматографии, а также гель-фильтрации. Для изучаемого фермента были определены основные биохимические константы и проведен анализ плавления в разных буферных системах и в присутствии различных добавок, который показал, что наибольшую стабильность НЗН проявляет в диапазоне pH от 6.5 до 8, а связывание гиспидина повышает температуру плавления с 42 до 50°C.

Высокоочищенные препараты фермента были использованы для кристаллизации. Для НЗН-GS(GGGGS)₅-(His)₁₀ была получена трехмерная структура с разрешением 3.8Å, в которой было подтверждено наличие флавина, обеспечивающего интенсивную желтую окраску. Вероятно, пространственное разрешение структуры удастся улучшить за счет кристаллизации НЗН, лишенной длинного неупорядоченного тэга (GS(GGGGS)₅-(His)₁₀). В рамках данной задачи после гидролиза НЗН-TEV-(His)₁₀ TEV-протеазой и последующей очистки были получены кристаллы НЗН-ENLYFQ, которые далее будут оптимизированы и использованы для расшифровки структуры апоформы и комплекса НЗН с гиспидином.

1.17. НОВЫЙ МЕХАНИЗМ РЕГУЛЯЦИИ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Кукушкин И.Д.^{1,3}, Шулепко М.А.², Случанко Н.Н.⁴, Попов В.О.^{2,4},
Кирпичников М.П.^{3,5}, Люкманова Е.Н.^{1,2,3,5}

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

²Шэньчжэньский МГУ-ППИ Университет, Шэньчжэнь, Китай

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

⁴ФИЦ Биотехнология РАН, Институт биохимии им. А.Н. Баха, Москва,
Россия

⁵Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва, Россия
Ilya23kuku@gmail.com

Никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (нАХР) представляют собой лиганд-зависимые ионные каналы, состоящие из пяти гомологичных субъединиц, представлены в нервной и иммунной системах, а также в эпителии. Никотиновые ацетилхолиновые являются перспективной терапевтической мишенью для лечения когнитивных дисфункций и различных раковых опухолей.

$\alpha 7$ -нАХР, широко экспрессированный в головном мозге, участвует в регуляции пластичности нейронов и памяти и подвергается фосфорилированию протеинкиназой А (РКА). Мы извлекли нативный $\alpha 7$ -нАХР из мозга мыши, подтвердили его структуру с помощью криоэлектронной микроскопии и показали, что фосфорилирование с помощью РКА *in vitro* обеспечивает его взаимодействие с распространенным белком человеческого мозга 14-3-3 ζ . Биоинформатический анализ указал на предполагаемый сайт связывания 14-3-3, находящийся на фрагменте внутриклеточной петли (ICL), содержащей Ser365 (Q³⁶¹RRCSLASVEMS³⁷²), который фосфорилируется *in vivo*. Мы реконструировали пептидный комплекс 14-3-3 ζ /ICL и определили его структуру с помощью рентгеновской кристаллографии, что подтвердило зависимость от фосфорилирования Ser365 каноническое узнавание внутриклеточной петли $\alpha 7$ -нАХР белком 14-3-3 ζ . Общий механизм регуляции нАХР путем фосфорилирования внутриклеточной петли и связывания 14-3-3 потенциально может влиять на активность нАХР, стехиометрию, и поверхностную экспрессию рецепторов.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (№ 19-74-10031).

1.18. ИЗМЕНЕНИЯ СВОЙСТВ ОБЫЧНОГО И СЕРПОВИДНОГО ГЕМОГЛОБИНА ЧЕЛОВЕКА ПРИ НЕКОВАЛЕНТНОМ И КОВАЛЕНТНОМ СВЯЗЫВАНИИ С ГЛУТАТИОНОМ

Кулешова Ю.Д., Петрушанко И.Ю.

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва
juliakuleshovaa@yandex.ru

Гемоглобин - это мажорный белок эритроцитов, основная функция которого заключается в транспорте кислорода к тканям организма. Аминокислотная замена Glu на Val в β -субъединице приводит к образованию серповидного гемоглобина (HbS). В нашей лаборатории было обнаружено [1], что Hb способен образовывать нековалентный комплекс с восстановленным глутатионом (GSH). При этом сродство Hb к кислороду повышается [1]. При изменении внутриклеточного редокс-статуса, Hb может подвергаться ковалентной модификации - глутатионилированию, которое повышает сродство Hb к кислороду в шесть раз [2]. В данной работе мы оценили, как ковалентное и нековалентное взаимодействие оксигемоглобина с глутатионом влияет на структуру Hb и HbS. С этой целью было охарактеризовано изменение спектров кругового дихроизма (КД) в УФ области и полосе Soret, а также изменение триптофановой флуоресценции.

При образовании нековалентного комплекса Hb с GSH наблюдается сдвиг в коротковолновую область и уменьшение амплитуды пиков в спектре КД и спектре поглощения в полосе Soret. Это свидетельствует об изменении в гемовом окружении. В случае HbS взаимодействие с GSH приводит к еще более выраженному эффекту. Глутатионилирование Hb и HbS к изменению спектров в полосе Soret не приводит, но в случае Hb вызывает изменение вторичной структуры белка, снижая его альфа-спиральность. При этом на вторичную структуру HbS глутатионилирование не влияет. Образовании нековалентных комплексов Hb и HbS с GSH вторичную структуру белков не изменяет, приводя к изменению их третичной и/или четвертичной структуры, о чем свидетельствует снижение температуры плавления и изменение триптофановой флуоресценции, более выраженное в случае HbS. На основании данных моделирования [1] можно предположить, что наблюдаемое возрастание триптофановой флуоресценции обусловлено участием W37 в связывании с GSH. При глутатионилировании спектр триптофановой флуоресценции в Hb и HbS, а также температура плавления данных белков не изменяется. Таким образом, ковалентное связывание глутатиона с Hb и HbS влияет в основном на вторичную структуру белка, в то время как нековалентное связывание с GSH изменяет третичную и/или четвертичную структуру данных белков, влияя на гемовое окружение, что может отражать разные пути повышения сродства гемоглобина к кислороду.

Литература:

1. Fenk, Simone et al. (2022). Hemoglobin is an oxygen-dependent glutathione buffer adapting the intracellular reduced glutathione levels to oxygen availability. *Redox Biology*. 58. 102535.
2. Mieyal, J.J et al. (2008). Molecular Mechanisms and Clinical Implications of Reversible Protein S -Glutathionylation. *Antioxid. Redox Signal*, 10, 1941-1988.

1.19. ВЛИЯНИЕ ДЕЛЕЦИИ ГЕНА ЭЛОНГАЦИОННОГО ФАКТОРА Р (EF-P) НА СЕКРЕЦИЮ ПРОТЕАЗ У ЗОЛОТИСТОГО СТАФИЛОКОККА

Кутьменева А.Д., Валидов Ш.З.

Казанский федеральный университет, Казань
AIDKutmeneva@stud.kpfu.ru

Staphylococcus aureus - грамположительная бактерия, которая часто является возбудителем внутрибольничных инфекций. *S. aureus* секретирует набор протеаз, которые позволяют ему избегать атаки иммунной системы организма-хозяина. Белок EF-P - фактор элонгации, который инициирует образование первой пептидной связи и облегчает синтез "жестких" полипролиновых мотивов, также необходим для эффективного синтеза белков секреторного аппарата золотистого стафилококка. В структуре пор и мембранных транспортеров нередко встречаются полипролиновые мотивы, вызывающие резкие повороты в локальной геометрии белка. Было высказано предположение, что в отсутствие EF-P трансляция последовательностей таких белков затруднена.

Для выяснения роли белка EF-P в секреторной функции у штамма *S. aureus* RN4220 методом гомологичной рекомбинации была произведена делеция гена *efp*. Рост делеционного мутанта в первые 7 часов отставал от такового у исходного штамма. При посеве Δefp мутанта с делетированным геном на среду с казеином молока, он показал полное отсутствие протеазной активности по сравнению с диким типом. При анализе секретируемых во внешнюю среду белков было показано снижение концентрации экзопротеинов, а в случае отдельных белков полное их отсутствие у делеционного мутанта.

Учитывая важную роль секретируемых белков в патогенезе стафилококковых инфекций, EF-P, как белок необходимый для поддержания секреторного аппарата *S. aureus*, является многообещающей и селективной мишенью для нового поколения антистафилококковых препаратов.

1.20. ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ ИЗОФОРМ ТРОПОМИОЗИНА Трm1.8 И Трm1.9

Лапшина К.К.^{1,2}, Роман С.Г.², Нефёдова В.В.², Матюшенко А.М.²

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

²ФИЦ Биотехнология РАН, Москва
lapshina.2003@gmail.com

Тропомиозин (Трm) - это хорошо известный актин-связывающий белок, обладающий суперспиральной структурой. У млекопитающих количество изоформ Трm достигает порядка 40 вариантов. В рамках настоящего исследования были получены изоформы Трm1.8 и Трm1.9, играющие немаловажную роль в раковом перерождении клеток. Их физико-химические свойства были изучены с помощью методов дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), кругового дихроизма (КД), вискозиметрии, высокоскоростного центрифугирования и светорассеяния.

Спектры КД для Трm1.8 и Трm1.9 имели два характерных отрицательных максимума при 208 и 222 нм, что подтверждает наличие α -спиральной структуры у этих белков. Для более подробного изучения структуры белка препараты подвергались нагреву, а за содержанием α -спирали наблюдали по поглощению при 222 нм. Тепловая денатурация Трm носила обратимый характер. На кривых денатурации после взятия первой производной наблюдался ряд переходов на 40°C и 60°C для Трm1.8; 45°C и 60°C для Трm1.9.

При помощи метода ДСК были получены данные о доменной структуре белков. После деконволюции (разложения) для обеих изоформ были определены 3 домена - участки в молекуле Трm, которые денатурировали независимо друг от друга. Энтальпии плавления Трm1.8 и Трm1.9 были сопоставимы друг с другом и составили около 900 кДж/моль. Тем не менее характер плавления этих изоформ различается: Трm1.8 оказался менее термостабильным с маленьким хорошо отделимым доменом при температуре 55°C, Трm1.9 обладал большей стабильностью и имел более равномерный характер плавления.

Сила концевых взаимодействий между димерами Трm определялась с помощью метода вискозиметрии. При равной концентрации и ионной силе показатель вязкости был выше у изоформы Трm1.9. Стоит отметить, что Трm1.8 и Трm1.9 обладают очень высокой вязкостью. Это свойство может способствовать быстрому образованию протяженных нитей на поверхности актинового филамента и защите его от действия актин-связывающих белков, способствующих "разрезанию" актинового филамента.

1.21. ЛИГАНДНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ И СПЕКТРАЛЬНЫЕ РАЗЛИЧИЯ "РОЗОВЫХ" И "ОРАНЖЕВЫХ" ГОМОЛОГОВ КАРОТИНОИД-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА AstaP

Дунегова Д.А., Слонимский Ю.Б., Случанко Н.Н.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт биохимии им. А.Н. Баха, Москва
dasha-lun@mail.ru

Каротиноиды - органические пигменты, обладающие выраженной антиоксидантной активностью. Ввиду своей крайней гидрофобности, в живых организмах каротиноиды находятся в составе мембран и каротиноид-связывающих белков (КСБ). Среди последних выделяется астаксантин-связывающий белок (AstaP) из зеленых микроводорослей, который обладает небольшой молекулярной массой и обширным репертуаром связываемых лигандов. Ранее мы установили, что каротиноиды связываются с центральной частью AstaP, которая соответствует так называемому фасциклиновому домену (FAS), а N- и C- концевые сегменты у гомологов AstaP вариабельны по длине и аминокислотному составу и напрямую не участвуют во взаимодействии с каротиноидами.

В недавних работах Кавасаки описана вторая подгруппа гомологов оранжевого AstaP (AstaP-orange), представители которой представлены пигментами розового цвета (AstaP-pink). В комплексе с каротиноидом астаксантином AstaP-pink демонстрирует более красноволновый максимум спектра поглощения (на 20 нм) по сравнению с AstaP-orange. Репертуар лигандов AstaP-pink и механизмы спектральных отличий остаются неизвестными, что и являлось целью наших исследований.

При использовании специальных каротиноид-продуцирующих штаммов *E.coli* впервые были получены рекомбинантные холоформы AstaP-pink1 с астаксантином, зеаксантином и кантаксантином, а путем реконструкции *in vitro* также с лютеином. В отличие от AstaP-orange, AstaP-pink не связывает бета-каротин. Для остальных каротиноидов в комплексе с AstaP-pink обнаружен сдвиг спектра поглощения в красную область, составляющий от 4 нм (лютеин) до 26 нм (кантаксантин). Кроме того, для холоформ AstaP-pink с лютеином и зеаксантином наблюдали размытие вибронной структуры спектра, что может быть вызвано увеличением количества полярных контактов с молекулой каротиноида. Мы предполагаем, что на спектральные свойства AstaP влияют природа химических групп каротиноида и структурные особенности сайта связывания каротиноидов. В настоящее время роль ключевых аминокислотных остатков выясняется с помощью мутагенеза. Выбран ряд гомологов AstaP для дальнейшей сравнительной характеристики, призванной лучше понять разницу в спектральных свойствах подгрупп данных белков.

1.22. ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТНЫХ ФОРМ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА eIF4E *Solanum tuberosum*, НЕСУЩИХ АМИНОКИСЛОТНЫЕ ФОСФОМИМИЧЕСКИЕ ЗАМЕНЫ В ПОЛОЖЕНИЯХ ПРЕДСКАЗАННЫХ САЙТОВ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ

Малеев М.Г., Колесникова В.В., Никонов О.С., Никонова Е.Ю.

Институт белка РАН, Пушкино
maks_gennadevich@inbox.ru

Эукариотический фактор инициации трансляции 4E представляет собой односубединичный белок массой около 25 kDa, который связывается с 5'-кэп-структурой на мРНК и участвует в формировании eIF4F, необходимого для рекрутирования 43S комплекса. Показано, что eIF4E может подвергаться фосфорилированию, однако до настоящего времени нет однозначного понимания, как это влияет на его структуру и функции. Несмотря на то, что функции eIF4E картофеля активно изучают в контексте борьбы с вирусными заболеваниями, на сегодняшний день отсутствуют данные о регуляции трансляции посредством его фосфорилирования.

Целью данной работы является получение мутантных форм белков семейства eIF4E *Solanum tuberosum* (SteIF4E), несущих аминокислотные фосфомимические замены в положениях предсказанных сайтов фосфорилирования.

Нами был проведен анализ структуры модели SteIF4E и поиск возможных сайтов фосфорилирования. В результате была обнаружена аминокислотная последовательность, соответствующая сайту фосфорилирования родственной Snf1 протеинкиназы 1 (SnRK1), расположенная рядом с кэп-узнающей петлей β3β4. Избирательное фосфорилирование фактора *in vitro* дает гетерогенный препарат белка. Поэтому нами были внесены точечные нуклеотидные замены в плазмиды, кодирующие изоформы SteIF4E, для получения мутантных форм с фосфомимическими заменами в сайте фосфорилирования SnRK1. Для этих мутантных форм была разработана схема выделения, и белки получены в препаративных количествах.

Результаты: 1) в SteIF4E обнаружен потенциальный сайт фосфорилирования, способный повлиять на функции белка; 2) получены мутантные формы белков семейства SteIF4E, несущие аминокислотные фосфомимические замены в положениях предсказанных сайтов фосфорилирования.

1.23. ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРА СУБСТРАТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ ЛАНТИОНИН-СИНТЕАЗЫ III КЛАССА AncKC

Мирзоева М.З.¹, Пипия С.О.¹, Мокрушина Ю.А.^{1,2}, Габибов А.Г.^{1,2}, Смирнов И.В.^{1,2}, Терехов С.С.¹

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

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

mirzoevanis@yandex.ru

Стремительное распространение микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) представляет серьезную угрозу для общественного здоровья. В последние десятилетия антимикробные пептиды (АМП) стали одними из ключевых объектов исследований, направленных на поиск и разработку новых антибиотиков. Среди всего разнообразия АМП особого внимания заслуживают лантибиотики. Лантибиотики представляют собой класс рибосомально синтезированных и посттрансляционно-модифицированных пептидов, которые проявляют выраженную антимикробную активность. Представители данного класса являются перспективными кандидатами на роль новых терапевтических агентов благодаря большому разнообразию структур и механизмов действия, а также широкому спектру биологической активности. Целью данной работы было исследование спектра субстратной специфичности лантионин-синтеазы III класса AncKC. В ходе исследования была получена генетическая конструкция, объединяющая в единой рамке считывания гены лантионин-синтеазы и пептида-предшественника, которая использовалась для гетерологической экспрессии модифицированного пре-пептида в *E. coli*. Реакция модификации природного субстрата AncKC лантипептида андалусидина была успешно реконструирована *in vivo* в гетерологическом продуценте. Полученная генетическая конструкция была использована для получения модифицированных пре-пептидов низина и лактицина, относящихся к I и II классам соответственно. Внесение посттрансляционных модификаций подтверждалось путем масс-спектрометрического анализа. Полученные результаты свидетельствуют о наличии расширенной субстратной специфичности у лантионин-синтеазы III класса AncKC и в дальнейшем могут быть использованы для получения искусственного разнообразия биологически активных пептидных препаратов с улучшенными терапевтическими характеристиками.

Исследование выполнено при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2021-1049.

1.24. СТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФИБРИЛЛООБРАЗУЮЩИХ ПЕПТИДНЫХ ФРАГМЕНТОВ БЕЛКА СЕМЕНОГЕЛИНА 1

Осетрина Д.А., Юльметов А.Р., Бикмуллин А.Г., Мухаметзянов Т.А., Ключкова Э.А., Усачев К.С., Ключков В.В., Блохин Д.С.

Казанский федеральный университет, Казань
d.sanchugova@yandex.ru

Четыре пептидных фрагмента белка семеногелина 1 (SEM1) (SEM1(45-107), SEM1(49-107), SEM1(68-107), SEM1(86-107)) образуют в семенной жидкости амилоидные фибриллы. Они участвуют в процессе оплодотворения, а также увеличивают инфекционную активность вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Амилоидные фибриллы SEM1 уменьшают электростатическое отталкивание между заряженными поверхностями как ооцитов и сперматозоидов, так и вирионов ВИЧ и клеток-мишеней. Чтобы понять процессы образования фибрилл SEM1, необходимо изучить нативные структуры образующих их пептидов.

В работе впервые были найдены пространственные структуры всех четырех пептидов в мономерной форме и структуры N-доменов трех из них: SEM1(45-67), SEM1(49-67), SEM1(68-85). Для исследования использовались методы спектроскопии ядерного магнитного резонанса высокого разрешения и кругового дихроизма и молекулярное моделирование. Показано, что пептидные фрагменты SEM1 имеют неупорядоченную вторичную структуру, но содержат спиральные участки (α , 3_{10} -спирали). Мы предполагаем, что эти спиральные участки могут участвовать в образовании фибрилл путем перехода в β -листы в процессе олигомеризации, а отсутствие жесткой структуры пептидов способствует их адаптации к различным условиям формирования фибрилл.

Также было проведено моделирование димера SEM1(68-107) с помощью молекулярной динамики (GROMACS) и метадинамики (библиотека PLUMED для GROMACS). В течение всего времени моделирования структура димера оставалась стабильной, но наблюдались конформационные изменения: обе молекулы пептида в димере имеют стабильные спиральные участки (72D-77D, 90L-93T), имеется изгиб основной цепи - β -петля (81K-85Y). Эти изменения в структуре димера SEM1(68-107) характерны для формирования зародышевого ядра в период лаг-фазы олигомеризации амилоидного пептида. Также мы наблюдаем промежуточное состояние перед образованием β -листа, т.к. формирование амилоидогенной сборки, содержащей спиральные фрагменты, является ключевым этапом фибриллообразования.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (Д.С. Блохин, проект № 20-73-10034).

1.25. ВЛИЯНИЕ ИОННОГО СОСТАВА СРЕДЫ НА АНТИМИКРОБНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛАНТИБИОТИКА ЛИХЕНИЦИДИНА

Потемкина А.А.^{1,2}, Антошина Д.В.¹, Баландин С.В.¹, Овчинникова Т.В.^{1,2}

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

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

Глобальное распространение антибиотикорезистентности привело к необходимости поиска противомикробных препаратов новых классов, которые отличались бы от традиционно используемых антибиотиков механизмом действия и более высокой антибактериальной активностью. К таким соединениям, в частности, можно отнести синтезируемые на рибосомах антимикробные пептиды - бактериоцины. Они подразделяются на четыре класса: содержащие посттрансляционные модификации (класс I), немодифицированные бактериоцины (класс II), бактериолизины (класс III), а также липо- и гликопептиды (класс IV). Лантибиотики - бактериоцины, относящиеся к подклассу Ia, характеризуются наличием тиоэфирных связей в составе лантиониновых и 3-метиллантиониновых колец.

Лихеницидин (Lch), выделенный из *Bacillus licheniformis*, относится к двухкомпонентным лантибиотикам, два пептидных компонента которых (α и β) функционируют в синергизме друг с другом. Первая фаза взаимодействия с клеточной мембраной бактерий состоит в образовании комплекса Lch α с липидом II - предшественником в синтезе пептидогликана. Вслед за этим Lch β связывается с комплексом Lch α :липид II, встраиваясь в липидный бислой, что приводит к формированию поры. Данная работа является продолжением исследования механизма действия лихеницидина, выделенного из штаммов *B. licheniformis* VK-21 и В-511. Ранее проведенные исследования позволили предположить, что на взаимодействие Lch α с липидом II влияет ионный состав среды и, в частности, содержание в ней ионов Ca²⁺. Нами была исследована зависимость антимикробной активности лихеницидина и его индивидуальных компонентов от наличия в среде данных ионов. Тестирование проводили на панели штаммов грамположительных бактерий, отличающихся структурой пептидной части липида II. Наряду с этим, было исследовано неспецифическое влияние ионной силы на биологическую активность лихеницидина. Способность Lch β разрушать мембраны грамотрицательных бактерий была показана с помощью теста с хромогенным субстратом ONPG. В дополнение к перечисленному, нами была исследована устойчивость данного лантибиотика к гидролизу в присутствии основных протеаз желудочно-кишечного тракта, что позволило лучше охарактеризовать его терапевтический потенциал.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта № 22-14-00380.

1.26. ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН В ПРЕДПОЛАГАЕМОМ ИНТЕРФЕЙСЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НА ПРОТЕКАНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ МЕЖДУ НЕЙРОГЛОБИНОМ И ЦИТОХРОМОМ *c*

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

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

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Биологический факультет, Москва
marinaapbch@mail.ru

Одним из механизмов нейропротекторного действия нейроглобина (Ngb) является его взаимодействие с митохондриальным цитохромом *c* (Cyt *c*), в результате которого происходит блокирование запуска апоптоза по внутреннему пути. Изучение данного белок-белкового взаимодействия представляется актуальным не только с фундаментальной точки зрения, но и с практической - как основа для разработки новых терапевтических средств для ингибирования гибели нейрональных клеток в условиях клеточного стресса.

Нами была сконструирована и получена панель мутантных вариантов Ngb (E60K, K67E, E87K, K95E, E60K/E87K) и Cyt *c* (K25E, K72E, K25E/K72E) с заменами в предполагаемом интерфейсе их взаимодействия, а также с заменами в красной петле Cyt *c* (T78S/K79P и P76I/G77L/I81L/F82L).

Взаимодействие между вариантами (мутанты и дикий тип) Ngb и Cyt *c* исследовали при помощи разработанной нами ранее методики с использованием спектроскопии комбинационного рассеяния. Было выявлено нарушение взаимодействия для следующих пар: NgbWT-Cyt *c*K25E, NgbWT-Cyt *c*T78S/K79P. Также наблюдали ослабление взаимодействия для пары NgbE60K-Cyt *c*WT. Полученные результаты предположительно связаны с изменениями параметров гема, вызванными внесенными мутациями. В частности, белковое окружение гемов Cyt *c*K25E, Cyt *c*T78S/K79P, NgbE60K можно охарактеризовать как более жесткое, по сравнению с таковым в белках дикого типа. Таким образом, подстройка гемов для эффективного переноса электрона от Ngb к Cyt *c* может быть нарушена, что в свою очередь приводит к частичному или полному нарушению данного белок-белкового взаимодействия.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-24-00985).

1.27. ИЗУЧЕНИЕ ПРИРОДНОГО БИОРАЗНООБРАЗИЯ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ СЕМЕЙСТВА ТАНАТИНОВ У НАСЕКОМЫХ

Тепловодская Ю.С., Сафронова В.Н., Пантелеев П.В., Овчинникова Т.В.

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

В связи с возрастающей важностью проблемы антибиотикорезистентности, антимикробные пептиды (АМП), обладающие широким спектром активности против различных патогенов, в настоящий момент рассматриваются в качестве перспективного класса антибиотических препаратов нового поколения. Танатин представляет собой β -спилочный АМП, выделенный из гемолимфы клопа *Podisus maculiventris*. Антимикробная активность танатина связана с его способностью нарушать биосинтез липополисахарида (ЛПС) у грамотрицательных бактерий: он связывается с эссенциальными белками LptA и LptD - компонентами ЛПС-собирающего белкового комплекса, в результате чего происходит гибель бактериальной клетки. Вместе с тем, относительно узкий спектр антибактериального действия (танатин активен против отдельных представителей энтеробактерий) и высокая частота возникновения бактериальной резистентности ограничивает потенциал танатина как антибиотика.

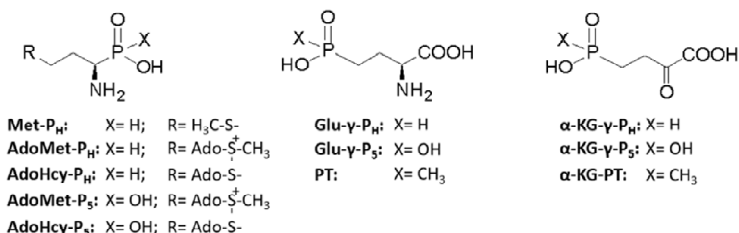
Основной целью нашей работы была идентификация у других видов насекомых природных гомологов танатина с высокой активностью против ключевых грамотрицательных возбудителей внутрибольничных инфекций - *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Escherichia coli*. В данной работе мы осуществили биоинформатический поиск танатин-подобных пептидов с использованием баз данных геномных и транскриптомных последовательностей насекомых, создали библиотеку потенциальных транслированных зрелых пептидов, получили панель отобранных рекомбинантных танатин-подобных АМП клопов и провели скрининг их биологической активности против наиболее клинически значимых грамотрицательных бактерий. В результате проведенной работы нами были обнаружены ряд гомологов танатина, обладающих: (1) более выраженной по сравнению с танатином активностью в отношении ряда целого ряда энтеробактерий; (2) активностью в отношении штаммов *E. coli* с индуцированной резистентностью к танатину; (3) активностью в отношении бактерий *P. aeruginosa*, нечувствительных к танатину. Наличие вышеописанных преимуществ и отсутствие цитотоксичности в отношении нормальных клеток человека позволяет рассматривать новые гомологи танатина в качестве перспективных кандидатных антибактериальных соединений, а также указывает путь для дальнейшего рационального дизайна танатин-подобных АМП с улучшенными свойствами.

1.28. НОВЫЕ ХИМИЧЕСКИЕ РЕГУЛЯТОРЫ АКТИВНОСТИ ЦИТОЗИН-С5-ДНК-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ Dnmt3a И ГЛУТАМАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ

Филонов В.Л.

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва
filonov_vsevolod@mail.ru

Замена карбоксильной группы аминокислот на фосфонистый (-P(O)(OH)H), или фосфоновый (-P(O)(OH)₂) фрагмент приводит к двум семействам аналогов. Аминофосфонистые кислоты, в отличие от аминокислот, способны претерпевать субстратоподобные превращения и обладают разнообразной биологической активностью, действуя или как таковые, или активным началом служат их метаболиты. Так, фосфонистый аналог метионина (Met-P_H) подавляет рост клеток L1210, где он превращается в AdoMet-P_H. Однако взаимодействие фосфоаналогов AdoMet с метилтрансферазами ранее не исследовалось. AdoMet-P_H и AdoMet-P₅ оказались вдвое худшими субстратами Dnmt3a по сравнению с AdoMet, а оба фосфоаналога AdoHcy ингибировали Dnmt3a в 4 раза хуже AdoHcy - эффективного природного ингибитора метилтрансфераз [1]. Удивительно, но различия в геометрии и заряде фосфонистой и фосфоновой групп практически не влияют на эффективность взаимодействия AdoMet-P_H и AdoMet-P₅ с ферментом. AdoMet-P_H химически существенно стабильнее AdoMet, что в совокупности с полученными данными делает его оригинальным и ценным инструментом исследования процессов трансметилирования.



Глутаматдегидрогеназа катализирует обратимое превращение глутамата в α-кетоглутарат. При связывании с ферментом карбоксильная группа субстрата выполняет якорные функции подобно взаимодействию AdoMet с Dnmt3a. Впервые показано, что Glu-γ-PH превращается в α-KG-γ-PH, но является в 30 раз худшим, чем глутамат, субстратом фермента. Активность фосфоаналогов глутамата располагается в ряду: Glu-γ-PH >> Glu-γ-P₅ > PT.

Glu-γ-PH и Met-P_H претерпевают субстратоподобные превращения, что позволяет, используя эти аналоги, реализовать "Troyn-horse strategy" для создания биологически активных соединений.

Литература:

1. Филонов В.Л., Хомутов М.А., Сергеев А.В., Хандажинская А.Л., Кочетков С.Н., Громова Е.С., Хомутов А.Р. (2023) Взаимодействие ДНК-метилтрансферазы Dnmt3a с фосфорорганическими аналогами S-аденозилметионина и S-аденозилгомоцистеина. *Молекулярная биология*, 57, 717-725.

1.29. ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ МУТАНТНЫХ АНАЛОГОВ ПЕПТИДА UGR9a-1, СЕЛЕКТИВНОГО ИНГИБИТОРА ASIC3 КАНАЛОВ

Хасанов Т.А.^{1,2}, Козлов С.А.², Андреев Я.А.^{2,3}, Осмаков Д.И.^{2,3}

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

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

³ПМГМУ им. И.М. Сеченова, Москва

hasanov.ta@phystech.edu

Кислоточувствительные ионные каналы (ASIC) - рецепторы, широко распространенные в нервной системе. Каналы представляют собой тримерные комплексы из 6 разных изоформ и различаются по биофизическим свойствам и участию в различных процессах организма. Наиболее распространенный в организме ASIC1a канал участвует в процессах обучения и синаптической пластичности, а ASIC3 канал, находящийся в основном в периферической нервной системе, участвует в процессах восприятия боли. Важным инструментом изучения работы каналов являются пептидные молекулы из-за их селективности и высокой аффинности к рецепторам.

Пептид Ugr9a-1, экстрагированный из морской анемоны *Urticina grebelnyi*, селективно ингибирует ASIC3 каналы со значением полуэффективной ингибирующей концентрации (IC_{50}) $14,2 \pm 0,9$ мкМ, не действуя на другие функциональные изоформы ASIC каналов. Для выяснения причин селективности методом молекулярного моделирования были построены комплексы Ugr9a-1 с ASIC1a и ASIC3 изоформами, демонстрирующие взаимодействие пептида с ASIC3 с участком в домене "палец" во внеклеточной области рецептора, тогда как связывание с ASIC1a было возможно в области трансмембранного домена со стороны липидного бислоя.

Для проверки модели было предложено создать в Ugr9a-1 дополнительный основно-ароматический кластер, свойственный многим лигандам ASIC каналов. Моделирование предсказало возможность связывания мутантных аналогов S16K и A23K с ASIC1a при сохраняющемся связывании с ASIC3. В результате электрофизиологических испытаний оказалось, что мутант A23K способен ингибировать ASIC1a со значением IC_{50} $6,7 \pm 0,4$ мкМ, а также более эффективнее Ugr9a-1 ингибировать ASIC3 (IC_{50} $9,4 \pm 0,1$ мкМ). S16K также приобретал способность, хоть и слабее A23K, ингибировать ASIC1a (IC_{50} $22,7 \pm 0,4$ мкМ), а также слабее A23K и Ugr9a-1, действовал на ASIC3 (IC_{50} $35,8 \pm 0,0$ мкМ).

Таким образом, с помощью комбинации методов молекулярного моделирования и электрофизиологии был продемонстрирован молекулярный механизм селективного действия пептида Ugr9a-1.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ №22-75-10021.

1.30. ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ, ФУНКЦИЙ И ФАРМАКОЛОГИИ БЕЛКА *Lystar5* ИЗ МОРСКОЙ ЗВЕЗДЫ *Asterias rubens*

Черников А.М.¹, Шуленко М.А.^{2,3}, Парамонов А.С.³, Махонин А.М.⁴,
Бычков М.Л.³, Кульбацкий Д.С.³, Шабельников С.В.⁵, Шенкарев З.О.³,
Люкманова Е.Н.^{2,3}

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

²Шэньчжэньский МГУ-ППИ Университет, Шэньчжэнь, Китай

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

⁴Национальный исследовательский университет "Высшая школа
экономики", Москва, Россия

⁵Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия
chernikov.andrei.m@gmail.com

Трехпетельные белки широко распространены у животных, в организмах которых они выполняют ключевые роли в множестве физиологически важных процессов, в их числе - модуляция холинергической системы. Такие белки-нейромодуляторы являются перспективными моделями для разработки лекарств лечения нервной системы. Исходя из этого, целью наших недавних исследований стало исследование разнообразия трехпетельных белков беспозвоночных и исследование их фармакологии.

В ходе биоинформатического анализа генома морской звезды *Asterias rubens* нами был обнаружен белок, названный нами *Lystar5*. Он обладает высокой степенью гомологии с нейромодулятором человека Lynx2 (~54%). В клетках *E. coli* были получены рекомбинантные аналоги белка *Lystar5*, а с помощью ЯМР-спектроскопии была получена пространственная структура.

Были проведены эксперименты по влиянию *Lystar5* на активность никотиновых ацетилхолиновых рецепторов. С помощью PCR в реальном времени показано, что при инкубации *Lystar5* с гиппокампами нейронами крыс значительно уменьшилась экспрессия ацетилхолинэстеразы и субъединиц $\alpha 4$ и $\alpha 7$ никотинового ацетилхолинового рецептора.

Для исследования возможных функций белка *Lystar5* в организме звезды *Asterias rubens* была исследована экспрессия соответствующего гена в различных тканях морской звезды. Дополнительно, был проведен pull-down эксперимент и с помощью масс-спектрометрии идентифицированы мишени *Lystar5* в организме *Asterias rubens*.

Работа поддержана РФФ № 19-74-20176.

1.31. ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКОТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ДЕФЕНСИНА ТАБАКА NaD1

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

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

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

Кандидозы являются широко распространенными грибковыми заболеваниями, среди которых особую опасность представляют системные инвазивные кандидозы, характеризующиеся высокой смертностью. На сегодняшний день *Candida albicans* по-прежнему является наиболее частой причиной развития инвазивного кандидоза во всем мире. Переход инфекции в системную форму происходит благодаря наличию у данного гриба множества факторов вирулентности. Ограниченный список конвенциональных антимикотиков и распространение резистентных штаммов гриба делает актуальным поиск и изучение новых противогрибковых соединений.

В данной работе мы исследовали способность обладающего противогрибковой активностью дефенсина NaD1 из цветков табака *Nicotiana glauca* влиять на такие факторы патогенности *C. albicans*, как способность к адгезии на поверхности эпителия и формирование биопленок. Дефенсин получали биотехнологическим способом путем гетерологической экспрессии в клетках *E. coli*. Адгезию чувствительных и резистентных штаммов гриба исследовали, используя немеченные и FITC-меченные дрожжевые клетки, а также монослой клеточной линии колоректальной аденокарциномы человека Caco-2, имитирующей кишечный эпителий. Возможное цитотоксическое действие NaD1 в отношении эпителиальных клеток Caco-2 исследовали с помощью теста с резазурином. Было показано, что разные штаммы *C. albicans* обладают различной способностью к адгезии на эпителии. NaD1 не проявлял цитотоксические свойства в отношении клеток Caco-2 и препятствовал адгезии на эпителии как немеченых, так и FITC-меченных дрожжевых клеток. Способность чувствительных и резистентных штаммов гриба формировать биопленки исследовали, используя 96-ти луночные планшеты и среду RPMI-1640, содержащую смесь аминокислот, солей, витаминов и глюкозы. Сформированные биопленки окрашивали кристаллическим фиолетовым. Было показано, что не все штаммы *C. albicans* формируют биопленки. Сам по себе NaD1 не влиял на формирование биопленок, однако усиливал антибиопленочное действие конвенционального противогрибкового препарата группы эхинокандинов - каспофунгина.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект № 24-25-00482).

СЕКЦИЯ 2

ГЕНЫ И ГЕНОМЫ. МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ. ГЕНОМНОЕ РЕДАКТИРОВАНИЕ

2.1. SUMOYLATION OF BONUS SAFEGUARDS TISSUE IDENTITY BY RECRUITING REPRESSIVE COMPLEXES IN THE DROSOPHILA OVARY

Godneeva B.K.^{1,2}, **Aravin A.A.**²

¹Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

²California Institute of Technology, Pasadena, CA, USA
bairagodneeva@gmail.com

The family of Transcription Intermediary Factors (TIF1) proteins, conserved across species, plays a critical role in transcriptional regulation by modulating chromatin structure. In contrast to mammals with four TIF1 members, *Drosophila* relies on a single representative, Bonus. Despite its involvement in embryonic development, organogenesis, and various signaling pathways, the precise targets and mechanisms of Bonus action remain unclear. Our study demonstrates that depletion of Bonus during early oogenesis results in severe ovarian developmental defects and ectopic expression of genes typically silenced in the germline, highlighting its important role in ovarian function. We show that Bonus associates with histone methyltransferase SetDB1 and chromatin remodeler NuRD, and depletion of either component alleviate Bonus-induced repression. Furthermore, we discover that Bonus undergoes SUMOylation at a conserved N-terminal site, shared among insect species. This SUMOylation influences Bonus's subnuclear localization, its chromatin association, and its interaction with SetDB1. Notably, Bonus's SUMOylation is mediated by the SUMO E3-ligase Su(var)2-10. This finding emphasizes that while SUMOylation of TIF1 proteins is conserved between insects and mammals, the specific mechanism and modification site differ between these taxa. In conclusion, our study reveals the essential function of Bonus, as a repressor of tissue-specific genes in the germline. Additionally, it elucidates the mechanism of Bonus's post-translational modification, which is critical for its role as a transcriptional regulator.

2.2. ПОЛУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ ДЛЯ СОЗДАНИЯ С ПОМОЩЬЮ СИСТЕМЫ CRISPR/Cas9 РЕПОРТЕРНОЙ ЛИНИИ ЭСК МЫШИ LMP7-TAGRFP

Колтунова Л.А.^{1,2}, Поденкова У.И.¹, Цимоха А.С.¹

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
lidiakoltunova@mail.ru

Иммунопротеасома - вариант протеасомы, в котором конститутивные каталитические субъединицы замещены индуцибельными, одной из которых является LMP7, кодируемая геном *PSMB8*. Иммунопротеасомы играют важнейшую роль в иммунном ответе, генерируя антигенные пептиды для экспонирования молекулами МНС I. Экспрессия генов иммунопротеасом активируется в клетках под действием провоспалительных цитокинов (IFN γ , TNF α), в то время как в антиген-презентирующих клетках иммуносубъединицы экспрессируются конститутивно. Интересно, что экспрессия иммунопротеасом также наблюдается в эмбриональных стволовых клетках (ЭСК) человека и снижается в ходе дифференцировки. Напротив, в ЭСК мыши синтез иммунопротеасом наблюдается только на ранних этапах дифференцировки. Получение модели ЭСК мыши с белком LMP7, слитым с флуоресцентным белком, позволит прижизненно наблюдать ее синтез в ходе дифференцировки, что поможет в изучении роли иммунопротеасом в этом процессе.

Получение линии ЭСК мыши, синтезирующей LMP7-TagRFP с помощью геномного редактирования, требует создания двух плазмид: плазмиды для внесения разрывов в последнем экзоне гена *PSMB8* и плазмиды, выступающей в качестве донора для гомологичной рекомбинации. Для первой плазмиды были выбраны две направляющие РНК, необходимые для внесения разрывов на расстоянии 41 и 53 нуклеотидов от стоп-кодона, соответственно. Каждая из направляющих РНК была клонирована в вектор lentiCRISPRv2, содержащий ген, кодирующий белок Cas9, а также гены устойчивости к пуromицину и ампицилину. Правильность нуклеотидных последовательностей плазмид подтверждали секвенированием

Создание донорной плазмиды осуществляли путём последовательного клонирования в линеаризованный вектор последовательностей левого и правого плечей гомологии, а также последовательности, кодирующей флуоресцентный белок TagRFP. Клонлируемые последовательности получали амплификацией с геномной ДНК ЭСК мыши и плазмиды, кодирующей TagRFP, с помощью ПЦП с использованием специфичных праймеров, содержащих уникальные рестрикционные сайты. Помимо этого, один из праймеров к последовательности флуоресцентного белка включал в себя последовательность, кодирующую серин-глициновый линкер. После каждого этапа клонирования промежуточные генетические конструкции проверяли рестрикционным анализом и итоговым секвенированием.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ №22-14-00390.

2.3. ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ ХРОМАТИНА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЛИНКЕРНЫХ ГИСТОНОВ

Кошкина Д.О.¹, Малюченко Н.В.¹, Феофанов А.В.^{1,2}, Студитский В.М.^{1,3}

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

²Институт биоорганической химии им. Академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

³Онкологический центр Фокс Чейз, Филадельфия, Пенсильвания, США
koshkina.daria.2015@post.bio.msu.ru

Хроматин эукариотических организмов представляет собой сложный, строго организованный комплекс геномной ДНК и белков. Структура и функция хроматина контролируются множеством регуляторных факторов, среди которых ключевую роль играют белки-гистоны. Гистоны делятся на две основные группы, которые содержат множество вариантов, специфичных для ткани, клеточного цикла или организма. В одну группу входят гистоны, образующие ядро нуклеосомы. Это четыре варианта гистонов, соединенных вместе в положительно заряженную глобулу, вокруг которой обернута ДНК в 1,7 витка. Вторая группа гистонов (линкерные гистоны) связывается с ДНК вне нуклеосомного ядра и обеспечивает образование супрануклеосомных уровней упаковки хроматина - хроматосом.

В данном исследовании изучалось влияние линкерных гистонов H1.0 и H1.5 на структуру двухлинкерных моноклеосом. Оба белка имеют сходную структуру, но гистон H1.0 наблюдается в терминально дифференцированных клетках, тогда как H1.5 функционирует в соматических клетках и, будучи независимым от клеточного цикла, активен во время S-фазы.

Для изучения структурных особенностей нуклеосом использовали метод spFRET-микроскопии для анализа изменений структуры линкерной ДНК нуклеосомы при образовании комплексов. По результатам исследования были получены распределения, коррелирующие с эффективностью FRET (EPR) относительно частотного распределения нуклеосом. Взаимодействие нуклеосомы с H1.0 и с H1.5 переводит частицы в состояние с высоким FRET, что согласуется с текущими исследованиями о том, что линкерные гистоны сближают линкерную ДНК. Однако H1.0 приводит все нуклеосомы в единое состояние, тогда как такое же количество H1.5 переводит в это состояние только часть нуклеосом. Возможно, такая разница в эффекте компактизации на участках линкерной ДНК обусловлена разными биологическими функциями этих гистонов, поскольку состояние хроматина в активно делящихся клетках должно быть подвижным (H1.5), в то время как более плотная конформация хроматина необходима для терминально дифференцированных клеток (H1.0).

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №19-74-30003.

2.4. ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СТРУКТУРЫ НУКЛЕОСОМ БЕЛКАМИ СЕМЕЙСТВА PARP

Лобанова А.А.¹, Малюченко Н.В.¹, Феофанов А.В.^{1,2}, Студитский В.М.^{1,3}

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

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

³Онкологический центр Фокс Чейз, Филадельфия, Пенсильвания, США
Angelina.lobanova@student.msu.ru

Хроматин - это основная форма генома эукариотических организмов, которая состоит из ДНК, гистонов и негистоновых белков. Хроматин имеет компактную, но одновременно динамичную структуру, которая влияет на активность генома в ядре. Базовой структурной и функциональной единицей хроматина является нуклеосома, которая представляет собой динамичный ДНК-гистоновый комплекс, состав которого может меняться и влиять на транскрипцию генов. На конформацию нуклеосомы могут оказывать влияние факторы белковой и небелковой природы, среди которых особое место занимают белки семейства PARP. Повреждающие факторы различной природы приводят к нарушению целостности генома, способствуя появлению одно- и двухцепочечных разрывов ДНК, её модификации и потере азотистых оснований. Однако, существуют системы, которые защищают геном живых организмов от повреждающих факторов. К таким системам относится репарация ДНК. Одним из механизмов запуска репарации ДНК является поли(АДФ)рибозилирование, которое представляет собой обратимую ковалентную модификацию белков гомополимерной цепью из АДФ-рибозы. Семейство белков PARP отвечает за поли(АДФ)рибозилирование и активируется при повреждении ДНК. PARP-1 и PARP-2 - наиболее известные представители семейства PARP. Они являются ядерными ферментами, которые обнаруживают одноцепочечные и двухцепочечные разрывы ДНК.

В ходе исследования было изучено влияние белков PARP-1 и PARP-2 на структуру нуклеосом методами spFRET-микроскопии и EMSA. Было выяснено, что при взаимодействии PARP с нуклеосомой меняется конформация нуклеосом, и можно видеть сдвиг пика интенсивности FRET (E_{gr}) в область более низких значений. Кроме того, по результатам экспериментов, проведенных методом EMSA, было показано, что при взаимодействии PARP с нуклеосомой могут образовываться комплексы с более высокой молекулярной массой.

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда №19-74-30003.

2.5. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМЫ РЕКОМБИНАЦИИ Vxb1 ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОЙ ИНТЕГРАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ В ЗАДАННОЕ МЕСТО ГЕНОМА МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Миньковская Т.Е., Шепелев М.В.

Институт биологии гена РАН, Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, Москва
inquisitive.lizard@gmail.com

Интеграза Vxb1 относится к семейству сериновых интеграз - белков, катализирующих рекомбинацию между двумя последовательностями ДНК по строго определенным сайтам, называемым attB и attP, длиной 38 и 52 п.о., соответственно. При этом сайты attB/P с мутацией центрального динуклеотида рекомбинируют только между собой, но не с сайтами дикого типа, что позволяет осуществлять с помощью Vxb1 направленный обмен кассетами в геноме (RMCE, recombinase mediated cassette exchange).

В ряде недавних работ было показано, что интеграза Vxb1 наиболее эффективна при встройке больших фрагментов ДНК (до 43 т.п.о.) в геном млекопитающих по сравнению с другими известными рекомбиназами и характеризуется отсутствием псевдосайтов в геноме человека.

Цель нашей работы - получить с помощью системы CRISPR/Cas9 клеточные линии рака легких человека A549, несущие сайты attP для Vxb1 в локусе AAVS1, и использовать такие клетки для направленной интеграции в геном конструкций путём RMCE.

Для реализации проекта будут получены донорные плазмидные конструкции для нокина в локусы AAVS1 человека и обезьяны с помощью CRISPR/Cas9, несущие маркерный флуоресцентный белок LifeAct-mScarlet, фланкированный сайтам attP дикого типа и attP-GA для осуществления RMCE, ген устойчивости к пуромицину для селекции клеток с корректным нокином в целевой локус и ген обратного тетрациклинового репрессора rtTA, что позволит вносить с помощью RMCE гены под контролем как конститутивных, так и индуцибельных промоторов. Полученные базовые линии клеток будут экспрессировать белок LifeAct-mScarlet, специфично маркирующий актиновые филаменты для визуализации архитектуры цитоскелета. В результате RMCE кДНК флуоресцентного белка LifeAct-mScarlet будет заменена на кДНК не флуоресцентных белков, что позволит отбирать клетки с корректной рекомбинацией с помощью сортинга.

В качестве модели для оценки эффективности RMCE в полученных клеточных линиях нами будет осуществлена замена кДНК LifeAct-mScarlet на кДНК малой ГТФазы RhoV, являющейся онкогеном и молекулярным маркером рака легких человека, или кДНК белка Notch1, активирующего экспрессию эндогенного гена RHOV. Клетки с корректной рекомбинацией будут отобраны с помощью сортинга и в них будет оценено влияние экспрессии Notch1 на уровень транскрипта гена RHOV, и влияние экспрессии ГТФазы RhoV на пролиферацию, апоптоз и адгезию клеток.

2.6. АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЛИПОКСИГЕНАЗНОГО КАСКАДА ЛЬНА ОБЫКНОВЕННОГО (*Linum usitatissimum*) ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ *Pectobacterium atrosepticum*

Окатова А.С.¹, Смирнова Е.О.^{1,2}, Топоркова Я.Ю.²

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

²Казанский институт биохимии и биофизики - обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра "Казанский научный центр РАН", Казань
aokatova2002@gmail.com

В ответ на стрессовые воздействия окружающей среды в клетках растений запускается каскад реакций, называемый липоксигеназным каскадом. В результате данного каскада образуются оксипирины - окисленные производные полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). За счет своего многообразия оксипирины участвуют в большом количестве жизненно важных процессов. На первом этапе липоксигеназного каскада из ПНЖК (линолевой или α -линоленовой) при участии липоксигеназ образуются 9- и 13-гидроперекиси. Далее они служат субстратами для ферментов СYP74, к которым относятся алленоксидсинтазы, гидропероксидлиазы, дивинилэфирсинтазы и эпоксиалкогольсинтазы.

Целью данной работы было проанализировать экспрессию генов ферментов СYP74 льна обыкновенного, инфицированного фитопатогенной бактерией *Pectobacterium atrosepticum* (время воздействия 24 ч и 48 ч). Результаты данной работы показали, что всего дифференциально экспрессировалось 3268 генов при инфицировании в течение 24 часов (1726 с повышенной экспрессией, 1542 - с пониженной) и 4236 генов в течение 48 часов инфицирования (1573 с повышенной экспрессией, 2663 - с пониженной). Среди них были найдены 88 генов ферментов липоксигеназного каскада с дифференциальной экспрессией. Из них у 24 генов экспрессия через 48 часов по сравнению с экспрессией через 24 часа повышалась, у 63 снижалась, у одного осталась на том же уровне. Из данных можно сделать вывод, что в течение первых 24 часов активизируется большая часть ферментов липоксигеназного каскада, затем этот процесс идет на спад.

Работа проведена при поддержке гранта РНФ проект № 23-14-00350.

2.7. КОМБИНИРОВАННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НУКЛЕОСОМ И ПЕПТИДОВ С ВЫСОКОЙ АФФИННОСТЬЮ К КИСЛОТНОМУ ЛОСКУТУ МЕТОДАМИ СТРУКТУРНОЙ БИОИНФОРМАТИКИ, МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ, ПОЛЯРИЗАЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ И spFRET -МИКРОСКОПИИ

Олейников П.Д.¹, Федулова Ф.С.¹, Армеев Г.А.¹, Моторин Н.А.¹, Сингх-Пальчевская Л.Р.¹, Сивкина А.Л.^{1,2}, Фескин П.Г.¹, Глухов Г.С.^{1,3}, Афонин Д.А.¹, Комарова Г.А.⁴, Кирпичников М.П.^{1,5}, Студитский В.М.^{1,6}, Феофанов А.В.¹, Шайтан А.К.¹

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

²Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

³Университет МГУ-ППИ в Шэньчжэне, Биологический факультет, Шэньчжэнь, Китай

⁴Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Физический факультет, Москва, Россия

⁵Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

⁶Fox Chase Cancer Center, Филадельфия, США
pasha.olejnikoff@yandex.ru

В ядрах клеток эукариот геномная ДНК с гистоновыми белками образует нуклеосомы, которые служат основой функционирования хроматина, обеспечивая организацию жизненно важных клеточных процессов. Характерной особенностью поверхности нуклеосом является отрицательно заряженный (кислый) участок (лоскут), расположенный на димере гистонов H2A-H2B, являющийся местом связывания различных белков хроматина. Изучение взаимодействия нуклеосом и таких белков и пептидов с высокой аффинностью к кислотному лоскуту может быть полезно не только с фундаментальной, но и с прикладной точек зрения.

В нашей работе в ходе анализа базы данных PDB и молекулярного моделирования была выявлена вариабельность паттернов взаимодействия изучаемых пептидов с кислотным участком, за исключением "якорного" остатка аргинина. Была также показана важная роль переходных межатомных взаимодействий в поддержании стабильности комплекса нуклеосома:пептид. С помощью анализа методом поляризации флуоресценции была определена субмикромольная константа диссоциации комплекса нуклеосома:LANA(1-22). Нами также показано стабилизирующее действие пептидов LANA(1-22) и CENP-Cmotif на структуру нуклеосомы с помощью spFRET -микроскопии и молекулярного моделирования.

Полученные результаты дают новые представления о моделях взаимодействия белков хроматина и о потенциальном применении нуклеосом-связывающих пептидов для направленной регуляции функционирования генома.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ (№ 19-74-30003), гранта Президента РФ (№ МД- 1131.2022.1.4), грантов Министерства науки и высшего образования (№№ 075-15-2021-1062 и 075-15-2021-1354).

2.8. ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ p53-ЗАВИСИМОГО ЭНХАНСЕРА 75C6 И ГЕНА *Xrp1* У ДРОЗОФИЛЫ

Попова М.К.^{1,2}, Конопатов А.В.¹, Конова К.Ю.¹, Лебедева Л.А.¹,
Шидловский Ю.В.¹

¹Институт биологии гена РАН, Москва

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

Ранее у дрозофилы был описан p53-зависимый энхансер на 3 хромосоме в сайте 75C6. Известно, что в ответ на радиоактивное излучение происходит активация исследуемого энхансера, которая приводит к активации экспрессии близлежащих генов *rpr*, *skl*, *hid*, вовлечённых в апоптоз. Кроме того, этот энхансер индуцирует ген *Xrp1* на другом плече 3 хромосомы, при этом расстояние между *Xrp1* и энхансером составляет более 30Mb, что является уникальным примером супер-дальнего действия энхансера.

Материалом для определения уровня экспрессии *Xrp1* методом полимеразно-цепной реакции в реальном времени служили эмбрионы 7-8 стадии развития, полученные от диких и мутантных линий *Drosophila*. Полученные данные свидетельствуют о прямом участии p53 в активации *Xrp1* в эмбрионах дрозофилы, поскольку экспрессия гена *Xrp1* индуцировалась в ответ на рентгеновское излучение у дикого типа, но не у мутантов с делецией участка p53RE.

Дальние промотор-энхансерные взаимодействия могут осуществляться за счёт различных архитектурных белков хроматина (например, GAF, CTCF) и белков, способных к гомодимеризации. Профили связывания факторов CTCF, GAF и p53 были получены на основе баз данных ChIP-seq. Известно, что GAF делает более доступным хроматин, а CTCF возможно принимает участие в регуляции дистальных взаимодействий. Соответственно, в нашем исследовании проводится анализ 75C6 энхансера для выявления областей, ответственных за взаимодействие в данном случае.

Мутагенез области 75C6 был проведён с помощью метода CRISPR/Cas9 и сайт-специфической рекомбинации. В результате были удалены области связывания каждого из вышеупомянутых белков, а также получены мутантные линии в гомозиготной форме. Измерение расстояния между энхансером и промотором проводилось в линиях до и после γ -облучения в дозе 40 Гр с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ*. Полученные данные свидетельствуют о том, что сближение энхансера и промотора происходит после облучения в диком типе. Напротив, у мутантов, лишенных областей CTCF или GAF, сближение нарушается, что указывает на важность этих областей в функционировании изучаемого энхансера. Мы также изучаем функциональный эффект полученных мутантных форм путем измерения активности p53-зависимых генов. Также ведется работа по получению новых мутантных форм локуса 75C6 с делецией сайтов связывания вышеуказанных белков для более точной локализации архитектурных элементов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ №20-14-00201.

2.9. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИОННОЙ АКТИВНОСТИ ВЫСОКОКОНСЕРВАТИВНОГО ГЕНА *Ras85D*

Сивопляс Е.А.^{1,2}, Белкина Е.Г.¹, Лазебный О.Е.¹, Куликов А.М.¹

¹Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

²Московский педагогический государственный университет, Москва
sivoplyas-ekater@mail.ru

Консервативный ген *Ras85D* у дрозофил различной степени родства характеризуется неожиданно высокой эволюционной изменчивостью области промотора, расположенной выше последовательности межгенного района и дистального по отношению к некодирующей 5' последовательности самого гена. Ключевая роль *Ras85D* в регуляции сигнальных каскадов, участвующих в регуляции клеточного цикла, активности пролиферации и дифференцировки клеток, предполагает консервативную регуляцию экспрессионной активности гена. Изменчивость регуляторной области гена, при наличии нескольких консервативных фрагментов ниже промотора, ставит вопрос о сходстве относительной экспрессионной активности гена у видов с различающимися последовательностями регуляторной области.

У всех видов показано наличие дополнительных точек старта транскрипции, расположенных как правило выше основной. Конститутивные регуляторные последовательности гена *Ras85D* представлены в выявленных эволюционно консервативных участках и обогащены сайтами связывания транскрипционных факторов, контролирующими различные этапы онтогенеза дрозофил.

Кроме этого в области 3'-UTR гена *Ras85D* присутствуют консервативные последовательности, отвечающие за связывание микроРНК. Оценки экспрессии, полученные для образцов, выделенных из целого организма на разных стадиях развития, свидетельствуют о существенных различиях уровня экспрессии гена *Ras85D*. Максимальная экспрессия гена отмечена для первой половины эмбрионального развития (стадии эмбриогенеза 5-12), последней трети третьего личиночного возраста и половозрелых самок дрозофил.

Данная работа поддержана грантом РФФИ № 16-34-00840 мол _а.

2.10. Cas9-ФЬЮЖН БЕЛКИ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ГОМОЛОГИЧНОЙ РЕКОМБИНАЦИИ

Швец Д.А., Шенелев М.В.

Институт биологии гена РАН, Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, Москва
darya-shv@mail.ru

Редактирование геномов с помощью системы CRISPR/Cas9 основано на репарации двуцепочечных разрывов ДНК (DSB) по механизмам нехомологичного соединения концов (NHEJ) и гомологичной рекомбинации (HR). Репарация DSB по механизму HR позволяет вносить направленные изменения в геном, кодируемые экзогенной ДНК-матрицей, что называется "нокином". Однако эффективность HR существенно ниже по сравнению с NHEJ, что обуславливает актуальность поиска методов повышения уровня нокина. Один из таких методов основан на создании Cas9-фьюжн белков, представляющих собой нуклеазу Cas9, слитую с клеточными белками, участвующими в репарации DSB, которые, будучи рекрутированными к месту внесения DSB, повышают эффективность нокина. Например, показана эффективность Cas9-фьюжн-белков с доминант-негативной формой 53BP1, ингибирующей NHEJ; с белком CtIP, активирующим HR; гистонметилтрансферазой PRDM9, повышающей HR за счет ремоделирования структуры хроматина; пептидом Breh27 из белка BRCA2, рекрутирующим Rad51 к месту DSB. Однако активность таких фьюжн-белков не сравнивалась в одной экспериментальной системе. Цель данной работы - сравнить эффективность нокина с помощью ряда Cas9-фьюжн-белков (53BP1, CtIP, PRDM9 и Breh27), влияющих на разные механизмы репарации DSB, в одной экспериментальной системе, а также оценить эффективность нокина при использовании двойных Cas9-фьюжн-белков, несущих различные домены на N- и C-концах фьюжн-белка. Оценка эффективности репарации DSB будет проводиться с использованием репортерной системы Traffic Light Reporter (TLR5) в клетках HEK293, а также с помощью разработанных нами репортерных систем на основе нокина флуоресцентного белка mNeonGreen в C-конец генов дистрофина мыши и виментина человека. Предварительные эксперименты в системе TLR5 показали, что все одиночные слитые белки существенно ингибируют NHEJ, повышая отношение HR/NHEJ, однако не влияют на уровень HR. Далее будет проведена оценка эффективности нокина при использовании двойных фьюжн-белков в трех репортерных системах. Разработанная экспериментальная платформа позволит сравнить уровень нокина при использовании Cas9-фьюжн белков, влияющих на различные молекулярные мишени путей репарации DSB, и оценить относительный вклад каждого из механизмов в эффективность репарации DSB. Кроме того, экспериментальная платформа может быть использована для поиска и оценки эффективности новых Cas9-фьюжн белков.

2.11. ГЕНЫ РЕГЕНЕРАЦИИ, ИСЧЕЗНУВШИЕ В ХОДЕ ЭВОЛЮЦИИ ПОЗВОНОЧНЫХ

Шитиков А.Д.¹, Арасланова К.Р.¹, Иванова А.С.¹, Терёшина М.Б.^{1,2}, Зарайский А.Г.^{1,2}

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

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва
alexander.sh98@gmail.com

Способность к регенерации сильно варьируется среди представителей разных классов позвоночных животных. Например, рыбы и амфибии могут восстанавливать целые части тела, такие как конечности, однако у теплокровных позвоночных способности к регенерации снижены и представлены физиологическим восстановлением тканей органов. Можно проследить некоторую тенденцию к снижению регенерации от холоднокровных к теплокровным позвоночным. Мы предположили, что данное явление может быть обусловлено эволюционными процессами, связанными с потерей ключевых генов-регуляторов регенерации на определенных этапах эволюции.

В ходе широкомасштабного биоинформатического анализа было установлено, что ген *ccl34* исчезает у теплокровных в ходе эволюции, но при этом его экспрессия увеличивается во время регенерации у холоднокровных. Нами было показано, что экспрессия *ccl34* повышается в течение первых суток после ампутации хвоста у головастика *Xenopus laevis*, а подавление экспрессии *ccl34* приводит к снижению эффективности регенерации. Известно, что хемокины способны привлекать разнообразные клеточные популяции к месту ранения и вовлекать их в процессы регенерации и воспаления. Сравнительный анализ паттернов экспрессии *ccl34* с генами маркеров миелоидных популяций - *csflr* (провоспалительная) и *mmp9* (регенеративная) в регенерирующих хвостах головастика *X. laevis* показал, что все три гена уже через 3 часа после ампутации проявляют экспрессионную активность, которая к 24 часам после ампутации приходит к пиковому уровню. Паттерн экспрессии *ccl34* частично пересекается с паттерном маркеров миелоидных популяций в области ампутации, что позволяет предположить, что они являются источником продукции этого хемокина, а возможны и привлекаемыми им мишенями. Полученные данные о ранней экспрессии исследуемого хемокина *ccl34* говорят об его участии на ранних стадиях этапов регенерации (формирование апикальной эпителиальной шапочки и бластемы), отсутствующих у теплокровных. Кроме того, определено, что на стадии рефрактерности, когда регенерация временно эндогенно заблокирована, экспрессия генов *ccl34*, *mmp9* и *csflr* имеет совсем другой паттерн. Дальнейшее исследование роли *ccl34* в этих процессах позволит выяснить возможны ли улучшения регенерационных потенций у теплокровных.

2.12 ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМ ПРОМОТОРНОЙ ОБЛАСТИ ГЕНА *hTERT*

Якушкина Ю.В.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Химический факультет, Москва
dddd80486@gmail.com

G-квадруплексы (G4), формирующиеся из последовательностей, богатых гуанином, играют важную роль в регуляции таких процессов как репликация, защита концов хромосом, транскрипция, мутагенез, репарация геномных повреждений и др. Активность генов, способных к формированию G4, связывают с появлением различных болезней у человека. Одним из примеров является богатый дезоксигуанозином ген, кодирующий каталитическую субъединицу теломеразы человека - обратную транскриптазу (*hTERT*). Известно, что область *hTERT* формирует три tandemных параллельных G4. Однако формирование подобной структуры показано только в случае одноцепочечной ДНК.

Таким образом, объектами исследования данной работы являлись две модели, представляющие собой промоторные области гена *hTERT* (grg_ *hTERT*), фланкированные с обеих сторон участками ДНК, образующими дуплексную структуру (34 и 36 нуклеотидных остатков). Предложенные модели более приближены к нативной структуре гена и, соответственно, лучше описывают формирование G4 в клеточных условиях. Предполагается их дальнейшее использование с целью изучения взаимодействия белков репарации ДНК с мутациями в grg_ *hTERT*.

Итак, целью работы являлось определение термодинамических параметров (ΔH°_{298} , ΔS°_{298} и ΔG°_{298}) формирования G4 и дуплексной структуры моделей grg_ *hTERT*, что позволит оценить их стабильность.

Методами температурозависимой УФ-спектrophотометрии и кругового дихроизма получены кривые "плавления" дуплексной и квадруплексной частей, соответственно. Из кривых "плавления" рассчитаны температуры "плавления" структур и их термодинамические параметры - ΔH°_{298} , ΔS°_{298} и ΔG°_{298} . Показано, что обе модели образуют, как G4, так и ДНК-дуплекс. Установлено, что для выбранных ДНК-моделей рассчитанные температуры "плавления" G4, ΔH°_{298} , ΔS°_{298} и ΔG°_{298} структур не отличаются в пределах погрешности расчёта.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 21-14-00161).

СЕКЦИЯ 3

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ, УГЛЕВОДОВ И НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ

3.1. СИНТЕЗ ТЕТРАСАХАРИДА А (ТИП 2) В ФОРМЕ ГЛИКОЗИЛ-АКЦЕПТОРА

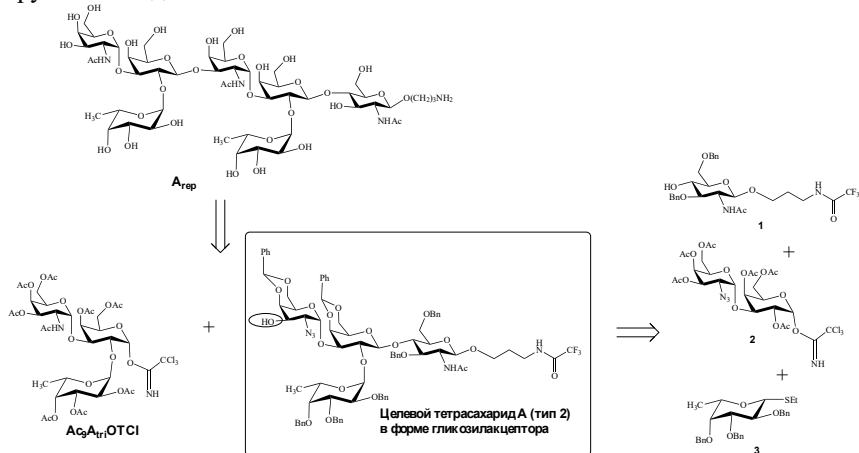
Анисимова Д.О., Савченко М.С., Попова И.С., Тыртыш Т.В., Бовин Н.В., Рыжов И.М.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
d.petrakova2000@yandex.ru

Один из АВ0-антигенов - гептасахарид $A_{\text{геп}}$ по данным исследований конца 80-х годов XX века присутствует на эритроцитах людей с подгруппой крови A1, тогда как у людей с подгруппой крови A2 он отсутствует. Однако в более поздних исследованиях такая специфичность была поставлена под сомнение. Для однозначного ответа на вопрос об этой специфичности этот гликан необходимо получить в индивидуальном виде, для чего лучше всего подходит химический синтез.

Мы решили синтезировать целевой А-гептасахарид с использованием блок-схемы [3+4] (Рис. 1). Для реализации такого подхода необходим защищенный тетрасахарид А (тип 2) в форме гликозил-акцептора со свободной 3-ОН группой в терминальном галактозаминовом звене. Целью данной работы являлся синтез такого гликозил-акцептора.

Синтез целевого тетрасахарида осуществляли путем гликозилирования N-ацетилглюкозаминового производного **1** (Рис. 1) А-дисахаридным гликозил-донором **2**, фукозилированием (после перестановки защитных групп) полученного трисахарида фукозил-донором **3** и деблокированием 3-ОН группы 2-азидогалактозного звена.



3.2. ТЕТРААЦИЛПРОИЗВОДНЫЕ L-ЦИСТИНА В КАЧЕСТВЕ ОСНОВЫ СИСТЕМ ДОСТАВКИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Володин Т.А., Буданова У.А., Себякин Ю.Л.

МИРЭА - Российский технологический университет, Москва
c-221@yandex.ru

Поверхностно-активные вещества, состоящие из симметричных димерных амфифилов, в последнее время все чаще изучаются в качестве носителей терапевтических молекул. Они привлекают внимание тем, что за счет симметричной структуры и разветвленности углеводородных цепей их критическая концентрация мицеллообразования сравнительно меньше, чем у обычных мономерных поверхностно-активных веществ, что позволяет им лучше формировать самостоятельные бислойные агрегаты в водной среде [1]. Целью данного исследования является разработка схемы синтеза нового димерного амфифила, содержащего диэтаноламин и L-цистин в качестве спейсерных участков.

В ходе исследования нами синтезирован новый катионный амфифил (рис. 1), структура которого по предварительным расчетам гидрофильно-липофильного баланса потенциально обеспечивает ему способность к эффективной доставке генетического материала в клетки. Наличие нескольких линкеров, а именно амидного, дисульфидного, а также сложноэфирного в данном соединении способно повысить эффективность трансфекции и понизить цитотоксичность за счет биodeградации [2]. Гидрофобный домен представлен дипальмитиновым эфиром диэтанолamina. Полярная головная группа представлена аминокислотой L-орнитином, что позволяет получить поликатионную молекулу для лучшего связывания с отрицательно заряженными нуклеиновыми кислотами [3].

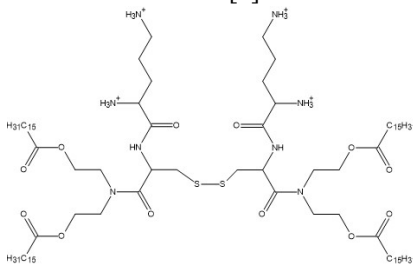


Рис. 1. N,N'-бис-L-орнитил-бис-(дипальмитойлдиэтаноламин)-L-цистин

Литература

1. Erica.M. Pach?n G?mez, O. Fernando Silva, M. Der Ohannesian, M. N? ?ez Fern?ndez, R.G. Oliveira, M.A. Fern?ndez. Micelle?to?vesicle transition of lipoamino Gemini surfactant induced by metallic salts and its effects on antibacterial activity. Journal of Molecular Liquids. 2022; 353; 118793; 1-8.
2. Zhang, Y., Sun, C., Wang, C., Jankovic, K. E., & Dong, Y. Lipids and Lipid Derivatives for RNA Delivery. Chemical Reviews. 2021; 121(20); 12181-12277.
3. Denieva, Z.G., Koloskova, O.O., Gileva, A.M. et al. Mixed Cationic Liposomes Based on L-Amino Acids As Efficient Delivery Systems of Therapeutic Molecules into Cells. Biochem. Moscow Suppl. Ser. 2023; 17(2); 136-147.

3.3. РАЗРАБОТКА МЕТОДА СИНТЕЗА ЛИПИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ С КОНТРОЛИРУЕМЫМИ СВОЙСТВАМИ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ И МАЛЫХ МОЛЕКУЛ В КЛЕТКИ

Дорожж О.В.¹, Меликов Р.О.^{1,2}, Коренков Е.С.¹, Сизиков А.А.¹, Никитин М.П.^{1,2}

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

²Научно-технологический университет "Сириус", Сочи
Dorosh.ov@phystech.edu

Увеличение эффективности и безопасности доставки терапевтических агентов к клеткам-мишеням является одной из основных задач медицины и биологии. Одним из наиболее перспективных решений является использование липидных наночастиц (ЛНЧ), которые обладают способностью инкапсулировать различные малые молекулы и генетические конструкции, защищая их от разрушения и обеспечивая эффективное поглощение клетками. Более того, ЛНЧ обладают биосовместимым составом, благодаря чему они нашли применение в качестве систем доставки различных лекарственных препаратов, в т.ч. противоопухолевых, а также в качестве основы для мРНК-вакцин и для генной терапии. На сегодняшний день для синтеза ЛНЧ разработан ряд методов, включая микроэмульсию, гомогенизацию липидов под высоким давлением и другие, но они обладают общими недостатками - высокой полидисперсностью образуемых частиц и низким процентом инкапсуляции, что ограничивает их практическое применение. Нашей целью является разработка легко масштабируемого метода синтеза монодисперсных ЛНЧ, способных с высокой эффективностью инкапсулировать нуклеиновые кислоты (НК) и малые молекулы.

Для получения ЛНЧ в данной работе был разработан и оптимизирован проточный метод с использованием системы микродозирования производства фирмы "Абисенс" и микрофлюидных чипов. Благодаря подобранным параметрам, таким как скорость подачи водной и органической фаз и диаметра шлангов были получены ЛНЧ со средним гидродинамическим диаметром не более 80 нм в сочетании с высокой эффективностью инкапсуляции олигонуклеотидов (более 90%).

Таким образом, разработанный метод синтеза ЛНЧ позволяет получать частицы с контролируемыми размерами и высокой монодисперсностью, что потенциально обеспечивает возможность их применения *in vivo* с различными генетическими конструкциями и для создания вакцин.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования, соглашения 075-03-2023-106, проект FSMG-2022-0016 (синтез наночастиц и их характеристика) и 075-03-2023-106, проект 0714-2020-0004 (изучение эффективности трансфекции *in vitro*). Авторы выражают благодарность компании ООО "Абисенс" за предоставленное оборудование.

3.4. МУЛЬТИВАЛЕНТНЫЕ АДРЕСНЫЕ УГЛЕВОДСОДЕРЖАЩИЕ ЛИПОКОНЬЮГАТЫ ДЛЯ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ

Ештукова-Щеглова Е.А., Маслов М.А.

РТУ МИРЭА, Институт тонких химических технологии им. М.В.

Ломоносова, Москва

shchegs.ea@gmail.com

На сегодняшний день известно большое количество методов лечения рака. Однако все они обладают недостаточной селективностью действия. Современным персонализированным подходом для лечения онкологических заболеваний является генная терапия, актуальной задачей которой остается поиск стабильного и безопасного для организма вектора доставки нуклеиновых кислот.

В свою очередь перспективным направлением лечения опухолевых заболеваний также является метод, основанный на действии иммунной системы. Данный подход заключается в использовании генно-модифицированных дендритных клеток, сконструированных для экспрессии опухоль-ассоциированных антигенов. Для нацеливания на дендритные клетки можно рассматривать различные поверхностные рецепторы, которые распознают молекулярные паттерны, связанные с патогенами или молекулярные паттерны, связанные с опасностью.

Направленная доставка нуклеиновых кислот, кодирующих опухоль-ассоциированный антиген, в дендритные клетки может быть обеспечена катионными липосомами, содержащими адресные липоконъюгаты с углеводными остатками. Липосомы, модифицированные трехвалентными углеводсодержащими липидами, демонстрируют лучшую ассоциацию с дендритными клетками и, как следствие, лучшую способность обеспечивать трансляцию мРНК по сравнению с липосомами с одновалентными липоконъюгатами и без адресного лиганда. В данной работе нами предложены ПЭГилированные производные холестерина, модифицированные трехвалентным адресным лигандом на основе Трис, в состав которого входят остатки N-ацетил-D-галактозамина, D-галактозы и D-маннозы. Полученные липоконъюгаты будут введены в состав катионных липосом, которые в дальнейшем будут исследованы на предмет активации иммунного ответа.

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

3.5. УСОВЕРШЕНСТВОВАННЫЙ МЕТОД ХИМИЧЕСКОГО СИНТЕЗА 3-ФТОР-3-ДЕЗОКСИСИЛОФУРАНОЗЫ КАК СИНТОНА ДЛЯ СИНТЕЗА НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ НУКЛЕОЗИДОВ

Зацепина А.Б.^{1,2}, Антонов К.В.², Константинова И.Д.²

¹Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
alex.zatsepina@gmail.com

3'-Фторпроизводные нуклеозидов представляют интерес как потенциально биологически активные вещества. Цель работы – получение 3-фтор-3-дезоксисилофуранозы **5** и 3'-фтор-3'-дезоксисилофуранозид бензимидазола **7** для дальнейшего исследования его свойств как субстрата пуриннуклеозидфосфорилазы.

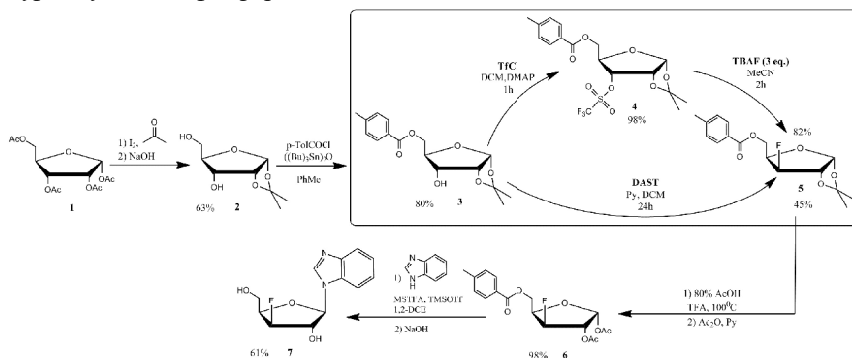


Схема 1. Общая схема синтеза 3-фтор-3-дезоксисилофуранозы и 3'-фтор-3'-дезоксисилофуранозид бензимидазола

Разработан новый метод синтеза 3-фтор-3-дезоксисилофуранозы **5** (Схема 1). Определяющими стадиями метода были реакции трифторметансульфонилирования и замещения полученного сульфоната на фтор тетрабутиламмонийфторидом (TBAF); выход фторзамещенного продукта **5** по двум стадиям составил 80%. Выход замещенной силофуранозы **5**, полученной по ранее известной методике с использованием диэтиламинтрифторида серы (DAST), составил всего 45%. Также впервые был синтезирован 3'-фтор-3'-дезоксисилофуранозид бензимидазола **7**. Структуры соединений **5** и **7** охарактеризованы данными ¹H и ¹³C спектроскопии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, грант № 21-13-00429.

3.6. ВЫЯВЛЕНИЕ МЕМБРАННОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОЗИДОВ

Злодеева П.Д.¹, Ефимова С.С.¹, Александрова Л.А.², Макаров Д.А.², Остроумова О.С.¹

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

²Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва
zlodeeva.pd@yandex.ru

Согласно Всемирной организации здравоохранения, поиск новых противотуберкулезных средств является одной из приоритетных задач, поскольку существующие лекарственные препараты характеризуется значительной цитотоксичностью и высоким риском возникновения резистентности у возбудителя. Показано, что некоторые производные пиримидиновых нуклеозидов способны ингибировать рост микобактерий, в том числе клинических штаммов с множественной лекарственной устойчивостью (Shmalenyuk et al., Bioorganic Med. Chem., 2013). Хотя механизм действия соединений до конца не известен, существует предположение, что он может быть ассоциирован с клеточной стенкой микобактерий (Khandazhinskaya et al., Biochimie, 2020), основными компонентами которой являются миколовые кислоты. Целью работы являлось установление способности ряда производных пиримидиновых нуклеозидов увеличивать проницаемость липидных бислоев, моделирующих мембрану и клеточную стенку микобактерий. Липидные бислои формировали по методу Монтала и Мюллера из 1-пальмитоил-2-олеил-sn-глицеро-3-фосфо-1'-гас-глицерина (ПОФГ) или смеси ПОФГ и метоксимиколовой кислоты (мМК) (80/20 мол.%) (Montal, Mueller, PNAS, 1972) в растворе 0.1 М KCl (pH 7.4). Обнаружено, что введение оксипалькильных производных тимидина с радикалами, включающими 10, 11 и 12 углеродных атомов (46, 52 и 53), с одной стороны ПОФГ мембран до концентрации 140-150 мкМ способствует появлению одиночных транзитных пор при напряжении 100 мВ. Введение в состав ПОФГ бислоя мМК приводит к тому, что при том же трансмембранном напряжении тестируемые соединения способны индуцировать поры уже при концентрации 10-45 мкМ. Таким образом, установлено, что наличие в мембране мМК потенцирует порообразующую способность исследуемых соединений, что выражается в снижении минимальной концентрации порообразования более, чем в 3 раза.

3.7. СИНТЕЗ ПРЕДШЕСТВЕННИКА РАЗВЕТВЛЁННОГО ПЭГ-СОДЕРЖАЩЕГО ЛИПИДА

Кербицкая М.Д., Шмендель Е.В., Макарова Д.М., Пучков П.А., Маслов М.А.

РТУ МИРЭА, Институт тонких химических технологий имени М.В.

Ломоносова, Москва

mariyakerbitskaya2001@mail.ru

Генная терапия - это эффективный метод лечения генетических заболеваний, основанный на введении терапевтических нуклеиновых кислот (НК) в клетки-мишени для устранения дефектов неисправных генов. Одной из задач, стоящих сегодня перед исследователями генной терапии, является поиск средств эффективной доставки НК в клетки без вызова иммунного ответа. Наиболее перспективным методом невирусной доставки считается использование липосом на основе катионных липидов. Катионные липосомы просты для химического синтеза и обладают низкой иммуногенностью. К минусам катионных липосом можно отнести невысокую эффективность трансфекции, обусловленную биологическими барьерами организма на пути комплексов катионных липосом с НК (липоплексов) в клетки-мишени. Так, белки плазмы крови активируют иммунный ответ организма и выводят липоплексы из кровотока. Введение в состав катионных липосом полиэтиленгликоль (ПЭГ)-содержащих липидов способствуют увеличению времени циркуляции липоплексов в организме. ПЭГ-содержащие липиды обеспечивают на поверхности катионных липосом стерический барьер, который препятствует связыванию с белками плазмы крови и, следовательно, опсонизации *in vivo*. Такое влияние объясняется тем, что ПЭГ на поверхности липосом образует гидратную оболочку, где молекулы воды связываются с гидрофильными цепями ПЭГ. Эта гидратная оболочка и предотвращает взаимодействие липосом с компонентами крови.

В литературе наиболее часто встречается применение линейных вариантов ПЭГ-липидов с молекулярной массой до 40000 Да. Однако было выяснено, что при введении ПЭГ индуцируется выработка антигенов IgM, что вызывает нежелательный иммунный ответ при повторном введении ПЭГ-содержащих катионных липосом. Поэтому целью данной работы является получение разветвлённого ПЭГ-содержащего липида, который послужит хорошей альтернативой линейным ПЭГ-содержащим липидам. Для синтеза разветвленного ПЭГ-содержащего липида в качестве исходного соединения был выбран диглицерид, который необходим для встраивания в катионные липосомы. Активирование диглицерида *para*-нитрофенилхлорформатом, введение спейсера ПЭГ со свободными аминогруппами и дальнейшее введение линкеров привело к предшественнику разветвлённого ПЭГ-содержащего липида.

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

3.8. ГАЛАКТОЗИЛИРОВАННЫЕ АДРЕСНЫЕ ЛИПОКОНЬЮГАТЫ ДЛЯ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ

Коленкова Т.В., Ештукова-Щеглова Е.А., Пучков П.А., Маслов М.А.

РТУ МИРЭА, Институт тонких химических технологии им. М.В.

Ломоносова, Москва

kolenkovatv@yandex.ru

Успехи в лечении рака за последние четыре десятилетия отмечены как в классической медикаментозной терапии, так и в современной иммунной онкологии. Существуют различные виды химиотерапевтических средств, однако помимо клеточной токсичности для нормальных клеток, терапевтический эффект ограничен из-за химиорезистентности, возникающей у раковых клеток к лекарственным препаратам.

С недавнего времени в клинических испытаниях в качестве клеточных медиаторов использовались дендритные клетки, иммунотерапия на основе которых безопасна и может индуцировать противоопухолевый иммунитет. Наиболее привлекательными мишенями для иммунотерапии являются лектины, экспрессирующиеся на поверхности дендритных клеток. Эти рецепторы распознаются биомолекулами, содержащими углеводные фрагменты, в том числе гликолипидами. Высокоспецифичное связывание лектинов может быть использовано для адресной доставки терапевтических нуклеиновых кислот посредством катионных липосом со включенными синтетическими гликолипидами.

Мультивалентные гликолипиды с остатками D-галактозы демонстрируют высокоспецифичное связывание с дендритными клетками, которое на несколько порядков выше одновалентных лигандов. Целью данной работы является получение адресных липоконъюгатов на основе матрицы Трис, содержащих остатки D-галактозы. На первом этапе синтеза в матрицу Трис по реакции Михаэля вводили карбоксильные группы, которые затем конденсировали со спейсированными производными D-галактозы 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/>.

3.9. СИНТЕЗ ЛИПОКОНЬЮГАТОВ С АДРЕСНЫМИ ПЕПТИДАМИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕАКЦИИ МИХАЭЛИ

Липенский В.М., Маслов М.А.

РТУ МИРЭА, Институт тонких химических технологий имени М.В.

Ломоносова, Москва

lipenskiy.v.m@gmail.com

Одной из главных проблем генной терапии рака является поиск безопасного и надежного способа доставки нуклеиновых кислот (НК) в опухоль. На данный момент проводятся исследования различных векторов доставки (ВД), включая вирусы, липосомы и другие наноразмерные частицы, способные доставлять НК в раковые клетки. Однако создание ВД, который обеспечивал бы точное и стабильное воздействие на раковые клетки, оставаясь при этом безвредным для организма, остается сложной задачей. Среди невирусных ВД особый интерес представляют катионные липосомы (КЛ). В состав КЛ входит катионный липид, необходимый для компактизации НК и формирования липоплексов - комплексов НК и КЛ. Для улучшения процесса высвобождения НК в клетке в состав КЛ включают липиды-хелперы. Введение ПЭГ-содержащих липоконъюгатов помогает увеличить время циркуляции липоплексов в кровотоке и защищает их от поглощения макрофагами. Поверхность комплексов может быть видоизменена с помощью пептид-содержащих липоконъюгатов, что обеспечивает адресную доставку НК к клеткам-мишеням. Примером таких адресных лигандов служат пептиды с RGD-последовательностями, которые могут специфично связываться с интегринами $\alpha_v\beta_3$, экспонированными на поверхности опухолевых клеток.

Целью данной работы является синтез RGD-содержащих липоконъюгатов с использованием винилсульфонового и малеимидного линкеров. Данные линкеры позволяют присоединять RGD-пептиды в мягких условиях за счет сопряженного присоединения по Михаэлю. На первом этапе нами был синтезирован диалкилглицерин с олигоэтиленгликольным-спейсером, который способен встраиваться в КЛ и обеспечивать стерическую доступность адресного пептида для селективного связывания с интегринами опухолевых клеток. На втором этапе в диалкилглицерин были введены винилсульфоновый или малеимидный линкеры, к которым затем были присоединены RGD-пептиды. Структура синтезированных соединений была подтверждена комплексом данных физико-химического анализа (спектроскопии ЯМР ^1H , ^{13}C и масс-спектрометрии).

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

3.10. ОЛИГОГЛИКОЛЕВЫЕ ПРОЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ПОДХОД К ПОВЫШЕНИЮ БИОДОСТУПНОСТИ ЛИПОФИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НУКЛЕОЗИДОВ

Макаров Д.А.¹, Негря С.Д.¹, Ясько М.В.¹, Карпенко И.Л.¹, Ефременкова О.В.², Александрова Л.А.¹, Кочетков С.Н.¹

¹Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

²Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков

им. Г.Ф. Гаузе, Москва

dmitnakaov_97@mail.ru

Производные нуклеозидов являются перспективными соединениями для разработки средств с широким спектром биологической активности. Ранее в нашей лаборатории были получены C-5-модифицированные производные 2'-дезоксисуридина с объёмными алкильными заместителями, проявившие выраженную активность против лабораторного H37Rv и клинического лекарственно-устойчивого MS-115 штаммов *M. tuberculosis* [1]. Однако их крайне низкая растворимость в водных средах препятствовала дальнейшему изучению их антибактериальной активности против других штаммов патогенных микроорганизмов. Нами была предложена стратегия получения пролекарственных форм этих нуклеозидов, основанная на введении в углеводную часть целевой молекулы гликолевого фрагмента через гидролизуемую клеточными ферментами карбонатную вставку [2-4].

Гликольсодержащие пролекарственные формы эффективно подавляли рост грамположительных бактерий (МИК₉₉ 20-160 мкМ) с эффективностью, сравнимой с действием ряда применяемых в клинике антибиотиков, при этом показали оптимальное время полугидролиза (3-12 ч) и не проявляли цитотоксического действия на линиях клеток A549 and Jurkat (CD₅₀ 120-175 μM).

Полученные данные указывают на удобство и перспективность использования гликолевых карбонатов для создания пролекарственных форм производных нуклеозидов.

Работа проводилась при финансовой поддержке гранта РФФИ № 23-14-00106.

Литература:

1. Shmalenyuk E.R. et al. Inhibition of Mycobacterium tuberculosis strains H37Rv and MDR MS-115 by a new set of C5 modified pyrimidine nucleosides //Bioorganic & medicinal chemistry. - 2013. - V. 21. - P. 4874-4884.
2. Negrya S.D. et al. Synthesis of water-soluble prodrugs of 5-modified 2-deoxyuridines and their antibacterial activity //The Journal of Antibiotics. - 2020. - V. 73. - P. 236-246.
3. Negrya S.D. et al. Glycol and Phosphate Depot Forms of 4-and/or 5-Modified Nucleosides Exhibiting Antibacterial Activity //Molecular Biology. - 2021. - V. 55. - №1. - P. 143-153.
4. Negrya S.D. et al. Oligoglycol carbonate prodrugs of 5-modified 2'-deoxyuridines: synthesis and antibacterial activity //Mendelev Communications. - 2022. - V. 32. - №4. - P. 433-435.

3.11. РАСТИТЕЛЬНЫЕ ПОЛИФЕНОЛЫ - МОДИФИКАТОРЫ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МЕМБРАН

Мартынюк В.А., Ефимова С.С., Захарова А.А., Остроумова О.С.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

ve08ra@mail.ru

Растительные флавоноиды - класс полифенолов, обладающих широким спектром биологической активности (Hostetler et al., Adv. Nutr. 2017). Флавоны - это флавоноиды, имеющие двойную связь и карбонильную группу в С-кольце. К данному подклассу флавоноидов относятся лютеолин, байкалеин, хризин, вогонин, скутеллареин и апигенин. Эти флавоноиды обладают противовирусной, противоопухолевой, противовоспалительной активностями (Chandrashekar et al., J Food Biochem. 2022; Naz et al., Life Sci., 235). Другой подкласс флавоноидов - флавоны, гидроксилированные в 3 положении С-кольца, называются флавонолы. К этому подклассу относятся морин и фисетин, обладающие противовоспалительной и противоопухолевой активностями (Caselli et al., Curr Med Chem. 2016; Ren et al., Biomed. Pharmacother. 2020).

Флавоноид-индуцированные изменения граничного потенциала мембраны оценивали по ионофор-индуцированному трансмембранному току, протекающему через липидные бислои. Мембраны формировали по методу Монтала и Мюллера из фосфатидилхолина (ДФХ) (Montal and Mueller, PNAS, 1972). Для исследования влияния флавоноидов на фазовое поведение липидов в мембране применяли дифференциальную сканирующую микрокалориметрию суспензии липосом, сформированных из димиристоилфосфохолина (ДМФХ).

Было установлено, что лютеолин, фисетин, морин, апигенин, хризин и скутеллареин снижают граничный потенциал ДФХ мембран (максимальное уменьшение составляет около 120, 100, 80, 70, 50 и 50 мВ, соответственно), вогонин не изменяет исследуемый параметр, а байкалеин увеличивает граничный потенциал мембран на 65 мВ. Введение в суспензию ДМФХ липосом хризина, вогонина, байкалеина, апигенина, скутеллареина и фисетина в концентрации 100 мкМ вызывает снижение температуры плавления ДМФХ примерно на 0.3-0.7°C и приводит к росту ширины пика на полувысоте на 0.2-0.5°C. При этом лютеолин и морин практически не влияют на плавление ДМФХ (изменения не более 0.1°C). Достоверной корреляции между исследуемыми величинами и коэффициентом распределения октанол/вода не обнаружено, что указывает на зависимость диполь-модифицирующей способности флавоноидов и их способности разупорядочивать мембранные липиды не только от липофильности их молекул. Обсуждаются различия в глубине погружения флавоноидов в мембрану, их ориентация в бислое, а также величины дипольного момента молекул.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 22-15-00417.

3.12. РЕГИОСЕЛЕКТИВНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ЛИПОФИЛЬНЫХ ПОЛИАМИНОВ ДЛЯ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ

Милагина С.В., Пучков П.А., Маслов М.А.

РТУ МИРЭА, Институт тонких химических технологий имени М.В.

Ломоносова, Москва

milagina.s.v@yandex.ru

Поскольку онкологические заболевания преимущественно вызваны генетическими нарушениями, то наиболее перспективным методом лечения является генная терапия. Это высокоэффективный метод, основанный на доставке в клетки организма терапевтических нуклеиновых кислот (ТНК). Для доставки ТНК используют вирусные или невирусные системы. Вирусные системы часто вызывают воспалительные и иммунные реакции в организме, поэтому невирусные системы имеют больший потенциал для применения в генной терапии. Наиболее перспективными невирусными системами для доставки ТНК являются катионные липосомы. Они могут быть сформированы из нескольких компонент, в том числе липида-хелпера, адресного липида, ПЭГ-липид. Однако именно катионные амфифилы отвечают за упаковку и защиту ТНК на пути к месту ее действия, что в значительной степени определяет общую эффективность доставки ТНК катионными липосомами.

Положительный заряд катионным амфифилам обеспечивает одна или несколько аминокислот. Для формирования наночастиц необходимо соединить (поли)катионный домен с липофильным. Одним из наиболее распространенных подходов является *N*-алкилирование. Для увеличения селективности алкилирования используют различные агенты, однако универсального способа, пригодного для разных субстратов не существует. Целью данной работы является поиск региоселективного способа конденсации поликатионного и липофильного доменов. Для этого использовали различные сульфонамиды в условиях реакций Мицунобу и Фукуямы, каталитическое *N*-алкилирование региоселективно защищенного полиамина, а также восстановительное аминирование липофильного альдегида. Для получения целевого продукта необходимо было удалить защитные группы.

Таким образом, изменяя условия реакции и природу активирующего агента, удалось подобрать условия для оптимизации стадии конденсации. Также, в ходе работы была разработана и успешно опробована новая методика синтеза липофильного полиамина для генной терапии.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России (проект № 0706-2023-0004).

3.13. РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЛИФЕРАЦИИ И ГИБЕЛИ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ СИСТЕМОЙ ЭНДОГЕННЫХ ЛИПИДОВ ГРУППЫ ЭНДОКАННАБИНОИДОВ

Шерстяных Г.Д.^{1,2}, Хадур Н.^{1,3}, Чернавская В.С.^{1,4}, Горбачёва Е.И.^{1,2}, Грецакая Н.М.¹, Акимов М.Г.¹, Безуглов В.В.¹

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

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва

³Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный

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

Galya24may@bk.ru

Рак молочной железы является одной из главных причин смертности среди женщин. Эндоканнабиноиды анандамид (AEA) и лизофосфатидилинозит (LPI), а также их рецепторы (CB1, CB2 и GPR55) обладают высокой прогностической значимостью и могут как стимулировать, так и подавлять пролиферацию. Данные литературы указывают на возможность как усиления, так и ослабления эффекта каждого из упомянутых эндоканнабиноидов в зависимости от наличия в системе других эндоканнабиноидов и конкретной комбинации рецепторов. Точные закономерности этого взаимодействия не установлены, что приводит к парадоксам, когда одно и то же вещество или его рецептор на разных стадиях заболевания проявляет себя как маркер и положительного, и отрицательного прогноза. Целью работы являлось изучение влияния комбинации анандамида и лизофосфатидилинозита на культуры клеток рака молочной железы.

Исследования проводились на клеточных линиях условно-нормальной молочной железы (MCF-10A) и аденокарциномы молочной железы (MCF7, SK-BR-3, BT-474, BT-20 и MDA-MB-231). В ходе эксперимента мы оценивали способность данных веществ индуцировать клеточную гибель или стимулировать пролиферацию клеток в условиях длительной инкубации (72 ч) как самих по себе, так и в виде комбинации. Оценка выживаемости культуры производили методами ресазуринового и LDH тестов.

AEA сам по себе оказывал антипролиферативное действие, а LPI - слабое про-пролиферативное. По действию сочетания AEA+LPI линии клеток можно разделить на 2 группы:

1. LPI не влияет на эффект AEA (BT-474) или подавляет его (BT-20);
2. Усиление токсичности от комбинации LPI и AEA: MCF-10A, MCF7, SK-BR-3, MDA-MB-231 (20 и более мкМ).

На линиях, где наблюдали усиление токсичности как правило присутствуют рецепторы CB2, что согласуется с предварительными данным об активности их блокаторов.

Таким образом, совместное использование анандамида и лизофосфатидилинозита обладает потенциалом использования в качестве цитопротекторных и противоопухолевых препаратов. В будущем планируется проведение подобных экспериментов и дальнейшее уточнение механизмов действия.

Работа поддержана грантом РФФИ №23-24-00423

СЕКЦИЯ 4

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

4.1. ИЗУЧЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ EGCG НА СТРУКТУРУ НУКЛЕОСОМ И ХРОМАТОСОМ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ ОДИНОЧНЫХ ЧАСТИЦ

Андреева Т.В.¹, Ефременко А.В.³, Любителей А.В.¹, Афонин Д.А.¹,
Студитский В.М.^{1,2}, Феофанов А.В.^{1,3}

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

²Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, USA

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

andreeva.tatyana.2014@post.bio.msu.ru

EGCG - это биологически активный катехин. В экспериментах *in vitro* показано, что EGCG может взаимодействовать с ДНК и РНК. Так как взаимодействие EGCG с хроматином, в частности, с нуклеосомами и хроматосомами, не было изучено ранее, этому посвящена наша работа.

Исследования проводили с использованием флуоресцентно-меченых нуклеосом. В качестве линкерного гистона использовали либо H1.0 из *Xenopus laevis*, либо H1.5 человека. Нуклеосомы и хроматосомы изучали методом флуоресцентной микроскопии одиночных частиц на основе Фёрстеровского резонансного переноса энергии FRET. В клеточных экспериментах использовали клетки НЕК293.

Было установлено, что EGCG проникает в живые клетки и взаимодействует там с ДНК. Было обнаружено, что EGCG вызывает структурные изменения в нуклеосомах при концентрациях от 0,4 мкМ до 6 мкМ, при которой происходит насыщение связывания с нуклеосомами. В присутствии EGCG нуклеосомные линкеры отдаляются друг от друга и происходит концентрационно-зависимое отворачивание ДНК от октамера гистонов, затрагивающее до 40 - 60 п. н. при насыщении связывания. Данные конформационные изменения при этом полностью обратимы. Связывание EGCG с хроматосомой препятствует сближению нуклеосомных линкеров под действием гистонов H1.0 и H1.5, но диссоциация линкерных гистонов H1.0 и H1.5 при этом, по-видимому, не происходит.

Способность EGCG проникать в ядро клетки, а также обратимо раскручивать нуклеосомы и изменять конформацию хроматосом *in vitro* может быть существенным компонентом механизмов, лежащих в основе эпигенетической активности EGCG и модуляции экспрессии генов под влиянием этого катехина.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 21-74-20018.

4.2. ИССЛЕДОВАНИЕ ГИДРОГЕЛЕЙ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ МЕТОДОМ ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ

Беляева Л.А.¹, Смагина В.В.¹, Панов А.А.¹, Замилацков И.А.²

¹Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва

²Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина РАН, Москва

beliaeva.l.a@yandex.ru

Степень сшивки является важной характеристикой гидрогелей, поскольку она характеризует способность изделия к набуханию и его вязкоупругость. Так, авторы работы [1] предложили способ определения данного параметра для гидрогелей гиалуроновой кислоты (ГК), где сшивающим агентом выступает 1,4-бутандиолдиглициловый эфир (БДДЭ). Степень сшивки (CrD) включает два показателя: степень модификации (MoD) - стехиометрическое отношение всех связанных сшивающих молекул к молекулам повторяющихся звеньев ГК, и эффективное сшивающее соотношение (CrR) - отношение молекул сшивающего агента, образующего связи в полисахаридной цепи, к общему количеству молекул БДДЭ. Значения MoD и CrR определяются экспериментально, а степень сшивки рассчитывается по формуле: $CrD = CrR \cdot MoD$.

Указанные показатели определяют методом ЯМР-спектроскопии: MoD определяют как на ядрах 1H , так и на ^{13}C , а CrR - только на ^{13}C . Изначально структуру гидрогеля разрушают при помощи фермента. Это упрощает структуру и повышает чувствительность, поскольку из-за высокой молекулярной массы проведение анализа становится затруднительным и неточным. После этого образцы лиофилизируют и растворяют в D_2O для проведения ЯМР-спектроскопии.

Расчет MoD и CrR осуществляется по формулам, приведенным ниже:

$$MoD (^1H) = 100 \cdot (I^{\delta H1.7}/4) / (I^{\delta H2.1}/3), \% \quad (1)$$

$$MoD (^{13}C) = 100 \cdot (I^{\delta C25.2}/2) / (I^{\delta C21.9-22.6}), \% \quad (2)$$

$$CrR (^{13}C) = 1 - I^{\delta C62.7} / (I^{\delta C25.2}/2), \quad (3),$$

где $I^{\delta H1.7}$ - сигнал на δ 1.7 ppm от $H5'$, $H6'$ сшивающего агента;

$I^{\delta H2.1}$ - сигнал на δ 2.1 ppm от N-ацетильной группы в гиалуроновой кислоте;

$I^{\delta C25.2}$ - сигнал на δ 25.2 ppm от связи между $C5'$ и $C6'$ сшивающего агента;

$I^{\delta C62.7}$ - сигнал на δ 62.7 ppm от связи между $C10'$ и -ОН-группой сшивающего агента;

$I^{\delta C21.9-22.6}$ - сигнал на δ 21.9-22.6 ppm от N-ацетильной группы в гиалуроновой кислоте.

Апробация методики проводилась на образце гидрогеля ГК, сшитой БДДЭ. У образца был известен диапазон MoD - 6-9%, полученный вискозиметрическим методом. При проведении исследования нами было получено значение MoD = 6,73%, что говорит о прямой корреляции двух методов. Далее планируется исследовать гидрогели сшитой ГК различной модификации.

Литература:

1. Wende F.J., et. al. Carbohydrate Polymers. 2017, 157, p. 1525-1530.

4.3. НОВЫЙ ПОДХОД К ПОЛУЧЕНИЮ БЕНЗОПИРИДО-[1,2]-ОКСАЗИН-2,4-ДИОНОВ - ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Иванов Д.С.^{1,2}, Смирнов А.Ю.¹

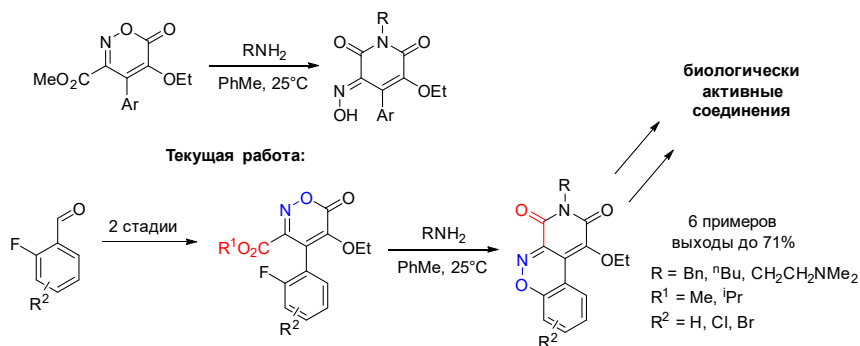
¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

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

d-ivanov.dmitry@yandex.ru

Среди многообразия биологически активных соединений циклические имиды занимают особое место, являясь родоначальниками классов барбитуратов, производных талидомида и ряда других препаратов. Широкий спектр биологических свойств стимулирует исследователей искать новые подходы к простым методам получения и функционализации этих гетероциклов. В данной работе мы представляем методику внутримолекулярной циклизации оксазин-6-он-3-карбоксилатов, приводящую к образованию трициклических имидов.

Предыдущие исследования:



В предыдущих исследованиях мы выяснили, что оксазин-6-оны под действием первичных аминов претерпевают перестроение с образованием имидов, включающих экзоциклическую функциональную группу оксима. Использование орто-фторзамещенных субстратов в этой реакции позволило нам осуществить тандемный процесс циклизации, приводящий к получению трициклических имидов. Преимуществом данного синтетического подхода является простота получения исходных оксазин-6-онов из широкодоступного класса бензальдегидов. Предложенная методика была распространена на 6 субстратов с вариативностью заместителей при аминогруппе и в бензольном кольце, выходы достигли 71%. Интересной особенностью оптических свойств этих соединений является интенсивно жёлтая окраска. Полученные полициклические имиды могут представлять интерес как биологически активные соединения. Результаты работы опубликованы в журнале Chemistry of heterocyclic compounds [Ivanov D.S. et al., 59, 101-104 (2023)].

4.4. ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ HER2-СПЕЦИФИЧНЫХ НАНОЧАСТИЦ ПОСРЕДСТВОМ ОПТИМИЗАЦИИ ИХ ПОВЕРХНОСТИ, НАПРАВЛЕННОЙ НА УСИЛЕННОЕ СВЯЗЫВАНИЕ С КЛЕТКАМИ В pH ОПУХОЛЕВОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ

Колесникова О.А.^{1,2}, Зверева С.Д.¹, Киреева О.К.¹, Обозина А.С.¹,
Шинунова В.О.^{1,2}

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

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
kolesnikova.aa@mipt.ru

Онкологические заболевания являются глобальной проблемой здравоохранения и второй по значимости причиной смерти во всем мире. Рак молочной железы, РМЖ, встречается в 1 из 4 случаев онкологических заболеваний среди женщин. При этом сверхэкспрессия рецептора эпидермального фактора роста человека 2 (HER2) при РМЖ ассоциирована с высоким метастатическим потенциалом опухолей, а также устойчивостью к химиотерапии и высоким риском рецидива. В связи с этим, разработка высокоселективных агентов (например, наноструктур) для адресного воздействия на клинически значимые мишени, в частности, HER2, имеет первостепенное значение для терапии онкозаболеваний. Однако успешная клиническая трансляция наночастиц затруднена рядом факторов, одним из которых может являться тестирование наночастиц *in vitro* при значениях pH нормальных клеток и тканей, существенно отличающихся от pH в области опухолевой ткани раковых клеток. В данной работе продемонстрировано успешное декорирование поверхности HER2-специфичных магнитных наночастиц с помощью бычьего сывороточного альбумина (БСА) для достижения оптимального поглощения клетками в диапазоне pH микроокружения опухоли. Данные наночастицы показали колоколообразную зависимость взаимодействия с раковыми клетками в диапазоне pH 5.6-8.0 с максимальным поглощением при значении pH 6.4, близком к значению pH микроокружения некоторых видов опухолей. При внутривенном введении наночастиц *in vivo* было показано улучшение эффективности накопления по сравнению с контрольными частицами в 2 раза. Таким образом, нами была улучшена адресность доставки HER2-специфичных частиц с использованием БСА без воздействия на функционально активные молекулы на поверхности наночастиц и саму структуру наночастиц, что, вероятно, найдёт широкое применения в разработке высокоселективных агентов для диагностики и терапии солидных опухолей.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России, проект № МК-4451.2022.1.4 (соглашение 075-15-2022-542).

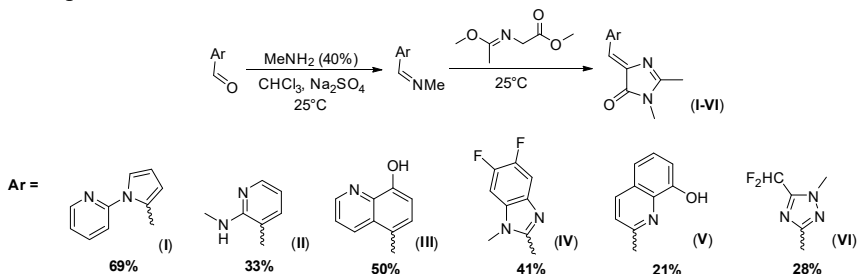
4.5. АРИЛИДЕН-ИМИДАЗОЛОНЫ КАК НОВЫЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ СЕНСОРЫ ИОНОВ КАДМИЯ И ЦИНКА

Краснова С.А.^{1,2}, Баранов М.С.¹

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

²Национальный исследовательский университет "Высшая школа экономики", Москва
svetlanakr2002@mail.ru

Использование флуоресцентного мечения в биологических исследованиях позволяет визуализировать различные клеточные структуры и органеллы, наблюдать за их поведением и активностью, а также анализировать состав среды и его изменения. Важным параметром является концентрация отдельных ионов, влияющих на функционирование ключевых регуляторных каскадов в живых организмах. Ранее для этой цели были разработаны разнообразные ионофлуорофоры - хемосенсоры, проявляющие выраженную флуоресценцию при связывании с ионами металлов. В настоящей работе мы предложили новую группу арилиден-имидазолонов, в структуры которых ввели фрагменты, выступающие в роли полидентатных лигандов, исследовали их оптические свойства и изучили возможность их применения в качестве сенсоров ионов металлов.



Мы установили, что максимумы поглощения новых арилиден-имидазолонов находятся в области 335-440 нм, а максимумы испускания - в области 435-555 нм. Добавление различных ионов металлов во многих случаях приводит к небольшому изменению формы и положения спектров. Однако для соединений (III, IV), практически не проявлявших флуоресценцию в свободной форме, при связывании с катионами Cd²⁺ и Zn²⁺ наблюдалось заметное ее усиление. При этом такой же реакции на ионы других металлов обнаружено не было. Титрование соединений (III, IV) солями Cd(OAc)₂ и Zn(NO₃)₂ позволило рассчитать константы связывания и предположить, что при добавлении растворов солей к синтезированным нами веществам произошло образование комплексов, которое повлекло за собой усиление интенсивности флуоресценции. Таким образом, мы обнаружили, что арилиден-имидазолоны (III, IV) могут выступать в качестве сенсоров ионов кадмия и цинка и, как следствие, применяться во флуоресцентной микроскопии для их детектирования.

4.6. МОДЕЛИРОВАНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ АЗЕМИОПСИНА

Морус Е.В.¹, Кудрявцев Д.С.²

¹ИАТЭ НИЯУ МИФИ, Обнинск

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова РАН, Москва

moruselizaveta@gmail.com

Аземиопсин - токсин, изначально открытый в яде змеи *Azemiops feae*, также является полипептидом, который избирательно ингибирует никотиновые ацетилхолиновые рецепторы, тем самым влияя на сокращение скелетных мышц. Это делает возможным создание принципиально нового миорелаксанта пептидной природы. Для оценки воздействия аземиопсина на организм человека была построена модель на основе обыкновенных дифференциальных уравнений. Система уравнений численно решалась с помощью пакета *mrsgolve* на языке программирования R, который используется для физиологически обоснованного фармакокинетического моделирования. Дифференциальные уравнения отражающие фармакокинетику и фармакодинамику процессов в организме человека:

$$\frac{dA_T}{dt} = Q_T \left(C_A - \frac{C_T}{\frac{Kp_T}{BP}} \right) \quad (1.1)$$

$$\frac{dA_T}{dt} = Q_T \left(C_A - \frac{C_T}{\frac{Kp_T}{BP}} \right) - f_u \cdot C_{LT} \cdot \frac{C_T}{\frac{Kp_T}{BP}} \quad (1.2)$$

$$\frac{dA_A}{dt} = Q_{Lu} \left(\frac{C_{Lu}}{\frac{Kp_{Lu}}{BP}} - C_A \right) \quad (1.3)$$

$$\frac{dA_V}{dt} = \sum_{T \neq Lu} \left(Q_T \cdot \frac{C_T}{\frac{Kp_T}{BP}} \right) - Q_{Lu} \cdot C_V \quad (1.4)$$

$$\frac{dA_{Lu}}{dt} = Q_{Lu} - \left(C_V - \frac{C_{Lu}}{\frac{Kp_{Lu}}{BP}} \right) \quad (1.5)$$

Уравнения 1.1-1.5 представляют незэлиминирующий, элиминирующий, артериальный, венозный и легочный компартменты организма. АТ - количество препарата в различных тканях, СА - концентрация препарата в артериальной крови, Q - приток крови к ткани/легочному компартменту, Кр - коэффициент ткань:плазма, ВР - коэффициент кровь:плазма.

Построенная модель отражает распределение молекул аземиопсина в мышечной ткани, а также в компартментах организма. Эти данные дополняют комплексное доклиническое исследование полипептида аземиопсин.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда No 21-74-10092, <https://rscf.ru/project/21-74-10092/>.

4.7. ПРИМЕНЕНИЕ ЭПР-, УФ-СПЕКТРОСКОПИИ И РЕАКЦИИ ГРИССА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА С ТИОСУЛЬФАТНЫМИ И 3,4-ДИХЛОРТИОФЕНОЛЬНЫМИ ЛИГАНДАМИ С МУЦИНОМ

Новикова В.О.¹, Покидова О.В.¹, Куликов А.В.¹, Санина Н.А.^{1,2,3}

¹ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН, Черноголовка

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

³Московский государственный областной университет, Научно-образовательный центр "Медицинская химия", Мытищи
veronika@icp.ac.ru

Нитрозильные комплексы железа (НКЖ) являются стабильной формой существования монооксида азота (NO) в организме. НКЖ с низкомолекулярными лигандами выступают переносчиками NO; белок-связанные НКЖ создают его долгосрочные депо. Одним из белков, связывающих НКЖ *in vivo*, является муцин (Мус) - основной компонент слизи желудочно-кишечного тракта, содержащий богатый цистеинами домен.

Для анализа механизмов реакций, протекающих в модельных биологических системах с НКЖ широко применяются методы спектроскопии поглощения, ЭПР-спектроскопии и реакция Грисса. Целью настоящей работы является исследование влияния Мус на биотрансформацию двух перспективных представителей класса НКЖ: $\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ [1] и $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_3\text{Cl}_2)_2(\text{NO})_4]$ [2] с помощью вышеописанных методов.

Согласно данным спектроскопии поглощения, наличие Мус в реакционной смеси влияет на скорость распада комплексов, пути трансформации НКЖ отличаются от таковых в буферных растворах. Метод ЭПР-спектроскопии подтверждает образование устойчивого во времени продукта в присутствии Мус. Генерация NO в системе с комплексами, которая оценивалась с помощью реакции Грисса (по кинетике образования нитрит-ионов), происходит не пролонгировано, и уровень образующихся нитритов отличается в зависимости от исходной структуры НКЖ. Таким образом, показано, что при распаде исследуемых НКЖ важную роль играет биологическая среда. Присутствие муцина в системе будет влиять на данные процессы, в том числе, на NO-донорную активность комплексов.

Исследование НКЖ с 3,4-дихлортиофенольными лигандами выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-73-10049, <https://rscf.ru/project/22-73-10049/>. Исследование НКЖ с тиосульфатными лигандами выполнено по теме Государственного задания, № гос. регистрации № АААА-А19-119071890015-6.

Литература:

1. Sanina N.A. // Russ. J. Coord. Chem. 2005. Vol. 31. № 5. P. 301-306.
2. Pokidova O. V. // Dalt. Trans. 2023. Vol. 52. № 9. P. 2641-2662.

4.8. СИНТЕЗ 2-АМИНО-АРИЛИДЕН-АЗОЛОНОВ ИЗ N-МОНОЗАМЕЩЕННЫХ АМИНОБЕНЗАЛЬДЕГИДОВ

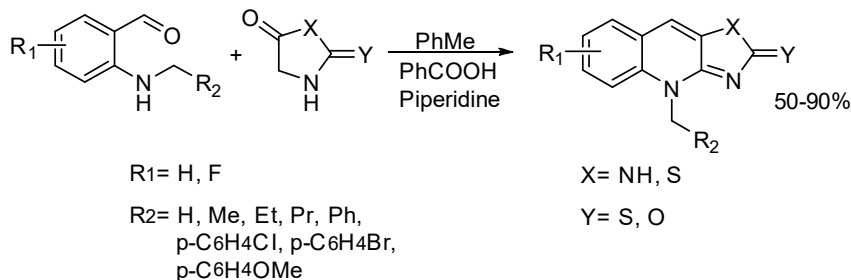
Опрышко В.Е.^{1,2}, Смирнов А.Ю.¹

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

²Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва

victoriaopryshko@mail.ru

Азоло[4,5-*b*]пиридины являются перспективным химическим каркасом, производные которого часто проявляют разнообразную биологическую активность. Синтез таких веществ часто сопровождается трудностями, вызванными ограниченной доступностью соответствующих 2,3-замещенных пиридинов. В связи с этим разработка новых и универсальных методов синтеза замещенных азоло[4,5-*b*]пиридинов является важной задачей. В ходе изучения реакции [1,5]-гидридного сдвига орто-амино-арилиден-азолонов мы обнаружили, что реакция легко протекает для имидазол-4-онов, однако субстраты с иными гетероциклическими фрагментами часто претерпевают другие превращения. Так, в ходе попыток синтеза иных орто-амино-арилиден-азолонов, мы установили, что при кипячении в толуоле монозамещенных по аминогруппе бензальдегидов с различными азолонами в присутствии пиперидина и бензойной кислоты образуются азоло[4,5-*b*]пиридины.



В результате проведенной работы мы изучили границы применимости подхода и синтезировали библиотеку соединений с различными заместителями в ароматической части молекулы и при атоме азота. Все вещества были описаны с помощью ЯМР ¹H, ¹³C и HRMS. Обнаруженная реакция пригодна для синтеза различных гетероциклических структур по единой схеме, что может представлять интерес для разработки библиотек соединений для медицинской химии.

4.9. РАЗРАБОТКА АЛЬТЕРНАТИВНЫХ ПОДХОДОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ДИСАХАРИДНЫХ НУКЛЕОЗИДОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ

Платов Д.А.^{1,2}, 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

Дисахаридные нуклеозиды являются важной группой природных соединений, обладающих разнообразной биологической активностью и входящих в состав биополимеров, таких как т-РНК и поли(АДФ-рибоза), и ряда сигнальных молекул [1]. Структурной особенностью этих соединений является наличие дополнительного углеводного остатка, присоединенного к нуклеозиду *O*-гликозидной связью. Для изучения механизмов биологической активности дисахаридных нуклеозидов в клетке был предложен метод получения дифференциально-защищенных нуклеозидных синтонов на основе 2',5'-ди-*O*-трет-бутилдиметилсилил (*TBDMS*) аденозина, содержащих в положении 5''- дополнительного углеводного остатка рибозы ортогональные защитные группы (левулиновая, феноксиацетильная и трет-бутилдиметилсилильная). Выбор защитных групп обеспечивал их селективное удаление с 5'- и 5''-концов углеводных остатков, что позволяет селективно вводить фосфатные и другие группы в указанные положения. Предложенный подход будет использован для изучения механизмов биологической активности дисахаридных нуклеозидов, связанных с их ферментативным превращением в трифосфатные формы в клетке. В ходе работы были оптимизированы условия разделения 2',5'-ди-*O*-*TBDMS*-аденозина и 3',5'-ди-*O*-*TBDMS*-аденозина и изучена региоселективность реакции их гликозилирования в присутствии тетрахлорида олова и ацилированных производных рибофуранозы с ортогональной защитной группой в 5-положении. Гликозилирование 3',5'-ди-*O*-*TBDMS* аденозина протекало со значительно меньшими выходами и образованием большого количества побочных продуктов по сравнению с 2'5'-дизамещенным аналогом, что связано, по-видимому, со стерически менее доступной для реакции 2'-ОН группой. Была показана возможность одновременного и последовательного селективного удаления терминальных защитных групп в 5'- и 5''-положениях углеводного остатка полученных соединений.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 21-14-00346).

Литература:

1. Drenichev, M. S., & Mikhailov, S. N. (2016). Poly (ADP-ribose): From chemical synthesis to drug design. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 26 (15), 3395-3403.

4.10. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ОЛИГОДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОТИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ МОДИФИКАЦИЮ ПО ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКОМУ ОСНОВАНИЮ

Пушкарёвская А.А.^{1,2}, Аралов А.В.³, Ломзов А.А.^{1,2}

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск

³Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, Москва
lomzov@niboch.nsc.ru

Детекция однонуклеотидных замен (SNP) в нуклеиновых кислотах является актуальной задачей современной биомедицины. Одним из подходов, позволяющих осуществлять их детекцию является создание высокоспецифичных олигонуклеотидных зондов. В данной работе исследованы физико-химические свойства новых флуоресцентных производных олигодезоксирибонуклеотидов, как перспективных инструментов для определения SNP. Изучены гибридизационные свойства модифицированных олигонуклеотидов, параметры флуоресценции олигомеров и их дуплексов, а также их структурные характеристики.

Термодинамические параметры формирования дуплексов, содержащих флуоресцентный нуклеозид, были определены методом термической денатурации с оптической регистрацией сигнала. Показано, что введение модификации в ряде случаев в существенной мере повышает специфичность таких зондов при выявлении определенных однонуклеотидных несоответствий. Изучение флуоресцентных свойств модифицированного нуклеотида и содержащих его олигонуклеотидов и дуплексов показало, что квантовый выход свободного нуклеотида в водном растворе низок и значительно повышается в глицерине. Квантовый выход флуорофора в составе олигонуклеотида возрастает и незначительно изменяется при формировании дуплекса. Проведено молекулярное моделирование методами квантовой химии и молекулярной динамики, которое позволяет предположить молекулярные механизмы некоторых наблюдающихся экспериментальных закономерностей.

Таким образом, исследованы физико-химические свойства модифицированных олигодезоксирибонуклеотидов. Полученные результаты будут использованы для разработки систем молекулярной диагностики социально-значимых заболеваний.

Исследование поддержано в рамках государственного задания ИХБФМ СО РАН № 123021600208-7.

4.11. НАНОЧАСТИЦЫ СЕРЕБРА, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ АДРЕСНЫМИ МОЛЕКУЛАМИ, ДЛЯ ФОТОТЕРАПИИ HER2-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ

Рожникова Т.В.¹, Шипунова В.О.^{1,2}

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

²Научно-технологический университет "Сириус", Сочи
rozhnikova.tv@phystech.edu

Химиорезистентность раковых клеток является одной из причин низкой эффективности традиционной терапии в борьбе с онкологическими заболеваниями. В связи с этим во всём мире ведётся неустанная работа по созданию эффективных методов лечения, в том числе наноматериалов для высокоселективного воздействия на раковые клетки. Вариативность наночастиц по размеру, форме, а также большая площадь поверхности относительно объёма, делают наночастицы эффективным инструментом в онкотерапии. Для фототерапии особый интерес представляют наночастицы, обладающие свойством локализованного поверхностного плазмонного резонанса (ЛППР), в частности, наночастицы серебра, являющиеся объектом данного исследования.

В данной работе наночастицы серебра были синтезированы химическим методом. Поверхность наночастиц была покрыта полиэтиленгликолем и модифицирована скаффолдовым полипептидом аффибоди, который способен селективно связываться с рецептором HER2, таким образом реализуя адресную доставку наночастиц к клеткам-мишеням. Наночастицы с ЛППР действуют как фотосенсибилизатор, из-за их более высокого оптического поглощения в определённой области спектра, энергия света от источника передается к месту опухоли в виде тепловой энергии, что приводит к нагреву и гибели раковых клеток, чувствительных к высоким температурам.

Были получены серебряные наночастицы размером 60-70 нм, обладающие пиком ЛППР в синей области спектра, при интернализации в клетки-мишени, контролируемо кластеризуются и пик ЛППР сдвигается в ИК область спектра. Такое уникальное свойство данных наночастиц позволяет использовать их для противоопухолевой терапии в глубоко расположенных тканях. Данные исследования имеют высокую значимость, поскольку открывают новые возможности по использованию значительно недооценённых ранее наночастиц серебра ввиду возбуждения ЛППР в синей области спектра для *in vivo* фототермической терапии в ближнем ИК-диапазоне, что позволит воздействовать на глубокорасположенные ткани.

Исследование поддержано Минобрнауки России, соглашение 075-03-2023-106, проект FSMG-2023-0015 (флуоресцентная спектроскопия) и 075-10-2021-093, проект NMB-RND-2120 (получение наноагентов и *in vitro* тесты).

4.12. НОВЫЕ СЕРОСОДЕРЖАЩИЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ХРОМОФОРА GFP

Рудик Д.И.^{1,2}, Баранов М.С.²

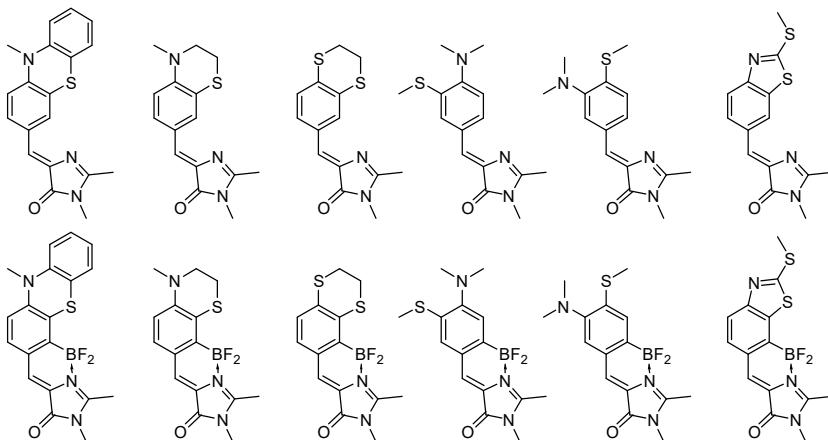
¹Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова РАН, Москва

rudikdany@gmail.ru

Флуоресцентные методы исследования являются одними из самых универсальных инструментов по исследованию живых систем. Развитие данных методов трудно представить без создания новых флуоресцентных меток. Одним из самых активно развивающихся направлений в этой области является создание флуоресцентных и флуорогенных красителей на основе различных производных хромофора зеленого флуоресцентного белка. Эти вещества обладают рядом преимуществ перед другими флуоресцентными красителями - умеренная растворимость в воде, малый размер молекул, возможность проходить через клеточные мембраны и отсутствие заряженных групп. Поэтому поиск новых соединений этой группы является актуальной задачей.



Нами был синтезирован ряд соединений - серосодержащих производных хромофора GFP и их конформационно фиксированных аналогов. Введение атома серы потенциально может существенно изменить свойства красителей, например, увеличить Стоксовы сдвиги или усилить сольватохромизм. Большинство соединений проявляли сильную флуоресценцию в видимой области в неполярных средах, в то время как в водных средах флуоресценции не наблюдалось. Квантовые выходы достигали 85%, а Стоксовы сдвиги 200 нм. Все это потенциально позволит успешно использовать полученные соединения для флуоресцентного мечения отдельных компонентов живых клеток, например, в роли флуорогенных красителей селективных в отношении отдельных органелл.

4.13. СОРБЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ПОВЕРХНОСТИ МИНЕРАЛЬНО-ОРГАНИЧЕСКОГО КОСТНОГО КОМПОНЕНТА

Самойленко Ф.О.¹, Султанов А.¹, Писарева Е.В.¹, Власов М.Ю.^{1,2}, Баранова М.А.¹, Третьяченко Я.Д.¹

¹Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королёва, Самара

²Самарский государственный медицинский университет, Самара
fedor.samoilenko@icloud.com

Передовым направлением научных исследований в области эндопротезирования является создание новых биоматериалов для замены и восстановления поврежденных костных структур. В связи с высокими показателями биологической активности и биосовместимости материалы, разработанные на основе минерально-органического костного компонента (МКК) могут широко применяться в медицине.

Исследования сорбционных свойств проводились на аллогенном МКК двух видов: из компактного и губчатого костного вещества. Все образцы МКК были получены по технологии "Лиопласт®". В качестве адсорбтива использовались следующие биологически активные соединения (БАС): цефтриаксона натрия трисесквигидрат, тетрациклина гидрохлорид и альбумин.

Для изучения сорбционных свойств навески МКК заливали растворами БАС и изучали при различных условиях. Концентрацию определяли после центрифугирования спектрофотометрическим методом. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью стандартных способов. Адсорбция БАС на МКК хорошо описывается уравнением Ленгмюра, отсюда следует, что в рассмотренном интервале концентраций образуется монослой макромолекул на поверхности МКК.

Было установлено, что губчатый МКК отличается по своим сорбционным свойствам от компактного. Это связано с физико-химическими и биологическими свойствами изначальных материалов, используемых в синтезе МКК. Выявлено, что адсорбционный потенциал больше у мкк из губчатой костной ткани. Были найдены предельные величины адсорбции БАС из водных растворов на образцах МКК. Данные по кинетике сорбции БАС показали, что время достижения стационарного состояния составляет от 4 до 8 часов, в зависимости от адсорбтива.

4.14. НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ N⁶-БЕНЗИЛАДЕНОЗИНА С РЕЦЕПТОР-СПЕЦИФИЧНОЙ ЦИТОКИНИНОВОЙ И АНТИЦИТОКИНИНОВОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Семенова Ю.Д.¹, Зенченко А.А.¹, Савельева Е.М.², Дреничев М.С.¹,
Ословский В.Е.¹

¹Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

²Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва
ula.semenova@gmail.com

Цитокинины - группа фитогормонов, играющих важную роль во всех процессах роста и развития растений, однако главной их функцией является регуляция пролиферации и дифференцировки клеток. Биологическое действие цитокининов основано на высокоаффинном взаимодействии с отдельными рецепторами цитокининов, которые представляют собой трансмембранные белки, обладающие гистидинкиназной активностью. На сегодняшний день известно множество синтетических аналогов природных цитокининов. Однако не менее важным направлением исследований является создание антицитокининов - антагонистов цитокининов, способных подавлять действие природных фитогормонов. На сегодняшний день прогресс в этой области весьма скудный.

В данной работе синтезирована серия N⁶-замещенных производных аденина и аденозина, и оценена их цитокининовая и антицитокининовая активности *in planta* на индивидуальных рецепторах модельного растения *Arabidopsis thaliana*. С целью изучения зависимости активности от строения полученных производных мы изучили, с одной стороны, влияние наличия и модификации углеводного фрагмента, а с другой стороны, влияние размера и строения заместителя в N⁶-положении пурина. В результате как среди производных нуклеозидов, так и среди оснований были обнаружены новые рецептор-специфические антицитокинины. В то же время мы показали, что активность таких соединений строго зависит от строения N⁶-заместителя, а в ряде случаев необходимым условием проявления антицитокининовой активности является наличие рибофуранозного фрагмента в положении N⁹ пурина, поскольку в большинстве случаев свободные нуклеиновые основания обладают выраженной цитокининовой активностью.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 23-24-00527.

4.15. ПОДХОДЫ К ПОВЫШЕНИЮ БИОДОСТУПНОСТИ 5'-НОРКАРБОЦИКЛИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДНОГО 5-ТЕТРАДЕЦЕНИЛУРАЦИЛА С ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Сохранева В.А.¹, Кезин В.А.¹, Шубенкова Е.Г.², Хандажинская А.Л.¹

¹Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

²РТУ МИРЭА, Институт тонких химических технологий им. М.В.

Ломоносова, Москва

sokhraneva.v@mail.ru

В настоящий момент основной проблемой терапии туберкулеза является резистентность, которая развилась почти ко всем используемым антибиотикам. Разработка новых классов антибиотиков значительно отстает от растущей потребности, и существует острая необходимость в создании новых препаратов, нацеленных на новые мишени, которые могли бы поддерживать активность против смертельно опасных устойчивых штаммов *Mycobacterium tuberculosis*.

Недавно было показано, что 5'-норкарбоциклические нуклеозиды с 5-замещенным урациловым основанием могут выступать как противотуберкулезные агенты (МИК99 5-10 мкг/мл на штаммах *M.tuberculosis* H37Rv и MDR MS-115) [1]. Соединение (±)-1-[4'-гидрокси-2'-циклопентен-1'-ил]-5-тетрадеценилурацил показало высокую активность в отношении обоих штаммов, но обладало низкой растворимостью в воде, что существенно снизило терапевтический потенциал. Целью данной работы являлось получение наночастиц на основе сополимера молочной и гликолевой кислот (PLGA) и липосом на основе соевого лецитина с включением (±)-1-[4'-гидрокси-2'-циклопентен-1'-ил]-5-тетрадеценилурацила синтезированного по ранее опубликованной методике [1]. Наночастицы на основе PLGA и липосомы как системы доставки лекарств позволяют контролировать фармакокинетику, увеличивать биодоступность лекарств и снижать неспецифическую токсичность за счет пассивной доставки.

5'-норкарбоциклическое производное 5-тетрадеценилурацила был инкапсулирован в наночастицы PLGA методом одинарных эмульсий. Наночастицы анализировали методом динамического рассеяния на приборе Zetasizer Nano (Malvern, UK). Общее содержание вещества анализировали спектрофотометрически. Полученные наночастицы обладали средним диаметром не более 100 нм, дзета-потенциалом +1.76 мВ и общим содержанием действующего вещества 23%.

Нагруженные липосомы получали методом ультразвуковой обработки с модификациями. Наночастицы анализировали методом динамического рассеяния на приборе Zetasizer Nano (Malvern, UK). Общее содержание вещества анализировали спектрофотометрически. Полученные липосомы обладали средним диаметром не более 100 нм, дзета-потенциалом -37 мВ и общим содержанием действующего вещества 8%. Полученные наночастицы и липосомы были переданы на дальнейшие биологические исследования.

Литература:

1. Matyugina, E.; Khandazhinskaya, A.; Chernousova, L.; Andreevskaya, S.; Smirnova, T.; Chizhov, A.; Karpenko, I.; Kochetkov, S.; Alexandrova, L. Bioorg. Med. Chem. 2012, 20, 6680-6686.

4.16. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИ АКТИВНОГО КЕМПФЕРОЛА НА СТРУКТУРУ ХРОМАТИНА В КОНТЕКСТЕ НУКЛЕОСОМ И ХРОМАТОСОМ

Черникова П.А.¹, Феофанов А.В.^{1,2}, Студитский В.М.^{1,3}

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

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

³Онкологический центр Фокс Чейз, Филадельфия, Пенсильвания, США
chernikova.pa@phystech.edu

Флавоноиды относятся к классу полифенольных соединений, выполняющих защитную функцию от патогенов и УФ-излучения. В качестве основного объекта исследования выбран природный полифенол кемпферол, который содержится во многих продуктах растительного происхождения и известен полезными терапевтическими свойствами. Антиоксидантное и противовоспалительное действие исследуемого флавонола показано в ряде таких заболеваний, как диабет, астма и канцерогенез. Ряд исследований указывает на то, что кемпферол является ДНК-тропным агентом и способен к интеркаляции между парами азотистых оснований, а также взаимодействует с ДНК посредством связывания с узкой и/или большой бороздками. Эпигенетика является набором посттранскрипционных изменений в ДНК и ядерных белках, которые напрямую вызывают изменения в структуре хроматина. В ряде работ было показано, что кемпферол подавляет стимуляцию промотора IL-8 и экспрессию генов, индуцированную TNF- α , а также способен усиливать антиоксидантную способность клеток PC-12 за счет регуляции экспрессии гем-оксигеназы-1 и сигнального каскада MAPK.

Варианты гистона H1 имеют различное сродство к хроматину и разную способность стимулировать конденсацию хроматина ввиду различного строения С-концевого домена. Поэтому в рамках данного исследования образование хроматосом рассматривалось на линкерных гистонах типа H1.0 и H1.5. На основе эффекта Фёрстеровского резонансного переноса энергии (FRET) определены контролируемые структурные перестройки нуклеосом с изменяющейся концентрацией KCl в отсутствие и в присутствии кемпферола.

Установлено, что кемпферол не обладает способностью дестабилизировать структуру нуклеосом в широком диапазоне концентраций.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №21-74-20018.

СЕКЦИЯ 5

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УЗНАВАНИЯ БИОМОЛЕКУЛ И ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛОВ В КЛЕТКЕ

5.1. АПТАМЕРЫ К EGFR ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ОПУХОЛЕВОГО МАРКЕРА НА КЛЕТКАХ ГЛИОБЛАСТОМЫ

Антипова О.М.¹, Дзариева Ф.М.², Савченко Е.А.³, Павлова Г.В.^{2,3},
Копылов А.М.¹

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

²Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

³НМИЦ нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко, Москва
antipovachem@gmail.com

Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) является одним из основных опухолевых маркеров глиобластомы (ГБ). К белку EGFR получены аптамеры, олигонуклеотиды, высокоаффинно и специфично связывающие целевую мишень. Взаимодействие аптамеров с рекомбинантным EGFR и нативным рецептором на клетке может различаться. Целью настоящей работы было исследование взаимодействия аптамеров с клетками культур ГБ пациентов.

В работе использованы РНК- и ДНК-аптамеры: модифицированные 2'-F-дезоксирибопиримидил нуклеотид-РНК аптамеры ME07 [1], CL04 [2], ДНК-аптамеры U31 и U2[3], и созданные в нашей лаборатории ДНК-аптамеры GR20 [4] и Gol1 [5]. Сравнение аптамеров проводили на линейных клетках A431, U87 и на клетках перевиваемых культур опухолей ГБ человека 107, 90, G01 и Sus/fp2 с различными уровнями экспрессии EGFR.

Ранее аффинность аптамеров к рекомбинантному EGFR была измерена методом интерферометрии биослоев. Методом проточной цитофлуориметрии на линиях клеток с различной экспрессией EGFR показано специфическое узнавание аптамерами нативного рецептора. Полученные данные для клеток сравнивали с аффинностью аптамеров к EGFR. В случае низкой представленности EGFR клетки перевиваемых культур в некоторых случаях могут взаимодействовать с аптамерами по неизвестному механизму; при высокой представленности EGFR аптамеры специфично взаимодействуют с клетками перевиваемых культур.

Работа выполнена при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение № 075-15-2021-1343 от 4 октября 2021 г.).

Литература:

1. Cheng S, Jacobson O, Zhu G et al. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2019;46(4):948-956.
2. Esposito CL, Passaro D, Longobardo I, et al. PLoS One. 2011;6(9):e24071.
3. Wu X, Liang H, Tan Y, et al. PLoS One. 2014; 9(6):e90752.
4. Zavyalova E, Turashev A, Novoseltseva A, et al. 2020 Jun;30(3):175-187.
5. Golovin A.V. Pavlova G.V., et al. Patent application 2022133936 dated 12/22/2022.

5.2. ХЕМОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ИНСТРУМЕНТ НА ОСНОВЕ ВКУСОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НАСЕКОМЫХ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ БЕТА-КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Белялов К.И.², Ручкин Д.А.¹, Лукьянов К.А.¹, Богданов А.М.¹, Колесов Д.В.¹

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

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

kamvarus@gmail.com

Активно развивающееся направление в нейробиологии, хемотреника представляет собой метод, позволяющий управлять электрической активностью клеток с помощью воздействия специфических лигандов на генетические кодируемые рецепторы. У существующих хемотренических инструментов имеется ряд ограничений.

В качестве хемотренического инструмента нами было предложено использовать вкусовые рецепторы насекомых (Gustatory Receptor, GR) из семейства Gr43a-подобных рецепторов. Данные рецепторы, являясь неселективными катионными каналами, активируются в ответ на взаимодействие с растительными моносахаридами, дисахаридами и многоатомными спиртами. Ранее нами была продемонстрирована возможность использования рецепторов данного семейства в нейронах и кардиомиоцитах, но в бета-клетках поджелудочной железы возможность их применения не проверялась. Разработка хемотренического инструмента для применения в бета-клетках выглядит перспективной для изучения диабета второго типа.

Нами была проведена гетерологическая экспрессия рецепторов клады Gr43a (BmGR9 (лиганд - фруктоза), BmGR10 (лиганд - инозитол) и TcGR20 (лиганд - маннитол)) в культуре бета-клеток поджелудочной железы мыши линии MIN6. С помощью кальциевого сенсора GCaMP6s, было показано, что бета-клетки, экспрессирующие эти рецепторы, демонстрируют строго специфический ответ на добавление соответствующего лиганда. На следующем этапе исследования была продемонстрирована возможность стимуляции секреции инсулина, в ответ на добавление лиганда.

Таким образом мы показали возможность использования рецепторов BmGR9, BmGR10 и TcGR20 в качестве хемотренического инструмента клеток поджелудочной железы мыши.

5.3. РОЛЬ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМЫХ КАНАЛОВ Orai В АКТИВАЦИИ ЭНДОГЕННЫХ КАЛЬЦИЙ-АКТИВИРУЕМЫХ ХЛОРНЫХ КАНАЛОВ ANO6 В КЛЕТКАХ HEK293

Григорьева Е.Р., Номеровская М.А., Решетин Д.С., Глушанкова Л.Н., Скобелева К.В., Шалыгин А.В., Казначеева Е.В., Колесников Д.О.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург
roma.grigorev.75@mail.ru

Кальций-активируемые хлорные каналы (CaCC) играют роль во многих физиологических процессах, широко представлены в разных тканях. Среди каналов CaCC выделяют семейство ANO. ANO6 (TMEM16F) является белком двойной функции, совмещает в себе свойства скрамблазы и ионного канала. Он очень важен для работы многих клеток, тромбоцитов и других.

Одним из основных путей повышения внутриклеточной концентрации кальция в электронеовозбудимых клетках является депо-управляемый вход. В нем участвуют сенсоры STIM на мембране эндоплазматического ретикулума и депо-управляемые каналы Orai и TRPC.

Пути активации каналов ANO6 изучено недостаточно, в основном опираясь на косвенные данные и системы с оверэкспрессией. Нарушение работы депо-управляемых каналов и ANO6 приводит к формированию сходных патологий. Можно предположить, что вход кальция через депо-управляемые каналы участвует в активации ANO6.

Целью работы было изучить регуляцию активности эндогенных CaCC в клетках HEK293 депо-управляемым входом кальция.

Мы впервые описали в клетках HEK293 токи через одиночные эндогенные каналы CaCC, образованные белками ANO6. Показали, что их активность зависит от опустошения депо на уровне тока через отдельные каналы и при отведении тока от целой клетки. В конфигурации inside-out приложение C-концевого фрагмента конститутивно-активного сенсора STIM1 с мутацией L251S приводило к активации эндогенных ANO6. Следовательно, активность эндогенных каналов ANO6 зависит от входа кальция через депо-управляемые каналы. В опытах с подавлением тока через эндогенные депо-управляемые каналы Orai за счет оверэкспрессии доминантно-негативных мутантов Orai1 E106Q активность эндогенных каналов ANO6 при опустошении депо была нарушена.

Таким образом, активность эндогенных ANO6 зависит от входа кальция через депо-управляемые каналы Orai.

Работа была поддержана грантами РНФ № 22-24-00761 (Колесников Д.О., Номеровская М.А.) и № 23-44-00054 (Григорьева Е.Р., Решетин Д.С., Казначеева Е.В.).

5.4. ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО ЗАРЯДА НЕДОСТАТОЧНО: ЗАМЕНА КЛЮЧЕВОГО АРГИНИНА НА ЛИЗИН В НЕЙРОТОКСИНЕ ВеKm-1 ЗНАЧИТЕЛЬНО СНИЖАЕТ ЕГО АКТИВНОСТЬ В ОТНОШЕНИИ hERG-КАНАЛОВ

Заварзина Я.И.¹, Василевский А.А.², Чугунов А.О.^{1,2}

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

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
zavarzina.iai@phystech.edu

Ионный ток через калиевый канал hERG (Kv11.1) можно заблокировать пептидным нейротоксином ВеKm-1 из яда скорпиона. Несмотря на то, что структуры hERG и ВеKm-1 по отдельности получены экспериментально, структура комплекса hERG с ВеKm-1 до сих пор неизвестна; ее определение могло бы внести весомый вклад в изучение разнообразия калиевых каналов и потенциальную разработку лекарств (канал hERG задействован в регуляции сердечного ритма). В данном исследовании мы использовали молекулярную динамику (МД) и ансамблевый докинг, направляемые результатами двойного мутагенеза [1], чтобы предсказать структуру комплекса hERG-ВеKm-1. Наша модель выявляет ключевую роль остатка токсина Arg20, который формирует три одновременных взаимодействия (солевой мост и водородные связи) с вестибулем канала. Мы провалидировали модель комплекса путем *in silico* мутации Arg20 на Lys: анализ траекторий МД показал, что даже такая "несущественная" замена заметно нарушает взаимодействие пептида с каналом. Наблюдение было подтверждено и *in vitro*: рекомбинантно произведенный мутант ВеKm-1^{R20K} значительно снизил сродство к каналу hERG. Таким образом валидированная, наша модель комплекса hERG-ВеKm-1 будет использоваться для проектирования лекарств (в частности, путем редизайна пептида ВеKm-1 для придания ему специфичности к гомологичному каналу EAG, участвующему в патогенезе опухолей мозга и не имеющему природных блокаторов).

Литература:

1. Tseng G-N, Sonawane KD, Korolkova YV, Zhang M, Liu J, Grishin EV, et al. Probing the outer mouth structure of the HERG channel with peptide toxin footprinting and molecular modeling. *Biophys J.* 2007;92: 3524-3540.

5.5. ПРИМЕНЕНИЕ АНТИ-EGFR АПТАМЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКИ ДОКСОРУБИЦИНА В КЛЕТКИ

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

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

²Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

³НМИЦ нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко, Москва
ivanovb661@yandex.ru

Направленная доставка химиотерапевтического агента к клеткам опухоли позволяет снизить нежелательные побочные эффекты химиотерапии. Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) - основной молекулярный маркер глиобластомы (ГБ), злокачественной опухоли головного мозга [1]. Доксорубин (ДОКС) - представитель антрациклиновых противоопухолевых препаратов, способный связываться с двуцепочечной ДНК. В настоящей работе в качестве узнающего участка конструкции использовали ДНК аптамер к EGFR GR20 [2]. Исследования проводили на клетках A431, с высокой представленностью EGFR, и на клетках культуры ГБ пациента Sus, с низкой представленностью EGFR.

Направленную доставку ДОКСа в клетки осуществляли в составе аптамерной конструкции (GR20hh). Согласно оригинальной разработанной методике ДОКС интеркалировали в искусственно созданный двутажевой участок аптамера GR20hh, полученный комплекс получил название GR20hh+ДОКС. С помощью метода измерения импеданса на приборе xCelligence была определена разница в скорости проникновения GR20hh+ДОКС в клетки с различной представленностью рецептора EGFR. При этом ДОКС использовался как токсический индикатор проникновения конструкции в клетку.

Показано, что аптамерная конструкция GR20hh эффективно связывает ДОКС, при этом интеркалированный ДОКС сохраняет цитотоксические свойства. Показано направленное действие конструкции GR20hh+ДОКС, которое зависит от представленности рецептора EGFR.

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

Литература:

1. Yang K. et al., Glioma targeted therapy: insight into future of molecular approaches // Molecular Cancer. 2022. Vol. 21. № 1. P. 1-32.
2. Zavyalova E. et al., Pyrene-modified DNA aptamers with high affinity to wild-type EGFR and EGFRvIII //nucleic acid therapeutics. 2020. Vol. 30. № 3. P. 175-187.

5.6. ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ РАКОВЫХ ОПУХОЛЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАГНИТНО-ПОЛИМЕРНЫХ НАНОЧАСТИЦ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛЕКТИНАМИ

Коваленко В.Л.¹, Комедчикова Е.Н.¹, Терёшина Е.Д.¹, Колесникова О.А.¹, Шипунова В.О.^{1,2}

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

²Научно-технологический университет "Сириус", Сочи
kovalenko.vl@phystech.edu

Несмотря на значительный прогресс в разработке новых препаратов для борьбы с раковыми заболеваниями, рак молочной железы продолжает оставаться основной причиной смертности от рака у женщин по всему миру, поэтому задачей исследователей является разработка эффективных неинвазивных методов онкотерапии. Разработка препаратов для фотодинамической терапии является одним из наиболее востребованных и быстро развивающихся направлений в современной онкологии. В основе фотодинамической терапии лежит образование свободных радикалов или активных форм кислорода, генерируемых фотосенсибилизаторами при облучении светом из ближнего ИК диапазона с минимальной токсичностью для нормальных тканей.

В данной работе нами были получены полимерные наночастицы из биосовместимого полимера поли-лактид-ко-гликолида (PLGA), нагруженные магнетитом и фотосенсибилизатором IR775 (mPLGA/IR775) и конъюгированные с лектинами различного происхождения, для фотодинамической терапии опухолей *in vivo*. Полученные наночастицы были всесторонне охарактеризованы различными биофизическими методами. А именно, скрининг методом проточной цитометрии показал, что наибольшей специфичностью к опухоли обладают наночастицы, конъюгированные с конканавалином А (ConA). Было показано, что mPLGA/IR775 обладает выраженной фотоиндуцированной цитотоксичностью. Так, при облучении синтезированных наночастиц *in vitro* ИК-лазером, их цитотоксичность увеличилась в 5 раз. Эксперименты *in vivo* на мышах BALB/c с солидными опухолями молочной железы показали, что после внутривенного введения и под воздействием внешнего магнитного поля наночастицы mPLGA/IR775-ConA эффективно накапливались в опухолях и создавали яркий флуоресцентный сигнал для биовизуализации *in vivo* и приводили к 100% ингибированию роста опухоли после одного раунда фотодинамической терапии.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России, проект № МК-4451.2022.1.4 (соглашение 075-15-2022-542).

Литература:

1. Kovalenko, V.L.; Komedchikova, E.N.; Sogomonyan, A.S.; Tereshina, E.D.; Kolesnikova, O.A.; Mirkasymov, A.B.; Iureva, A.M.; Zvyagin, A.V.; Nikitin, P.I.; Shipunova, V.O. Lectin-Modified Magnetic Nano-PLGA for Photodynamic Therapy In Vivo. *Pharmaceutics* 2023.

5.7. ВОЗМОЖНОСТИ ДЕТЕКЦИИ ПОВЕРХНОСТНОГО АНТИГЕНА CD133 В ОБРАЗЦАХ КЛЕТОК ГЛИОМ С ПОМОЩЬЮ АПТАМЕРОВ

Моисеенко В.Л.¹, Антипова О.М.¹, Павлова С.А.², Павлова Г.В.^{2,3,4}, Копылов А.М.¹

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

²Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

³НМИЦ нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко, Москва

⁴Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва

valerian.moiseenko@gmail.com

Глиобластома (ГБ) - одна из наиболее агрессивных первичных опухолей головного мозга. Рецидивы опухоли и неэффективность химиотерапии и радиотерапии связывают со стволовыми клетками ГБ. Трансмембранный белок CD133 - потенциальный маркер одного из ранних этапов дифференцировки клеток. Антитела способны детектировать CD133-экспрессирующие клетки, но эффективность детекции зависит от различных факторов, например, профиля гликозилирования CD133. К трансфицированным CD133+ клеткам отобраны аптамеры. [1,2]

Методами проточной цитофлуориметрии и флуоресцентной микроскопии оценили взаимодействие флуоресцентно меченных аптамеров анти-CD133 с клетками стандартных линий и перевиваемых культур ГБ пациентов. Для CD133-экспрессирующих линий клеток показана корреляция между средней интенсивностью флуоресценции и количеством мРНК CD133. Методом проточной цитометрии с флуоресцентными аптамерами выявлена популяционная гетерогенность перевиваемых культур ГБ. Окрашивание образцов клеток перевиваемых культур ГБ ДНК-аптамером FAM-Cs5 детектировали флуоресцентной микроскопией.

Для положительного заключения детекции поверхностного антигена CD133 с помощью флуоресцентных аптамеров тестируемая культура клеток ГБ пациента должна давать флуоресцентный сигнал только с аптамерным олигонуклеотидом, но при этом сигнал с неаптамерным олигонуклеотидом должен отсутствовать. Поскольку флуоресцентный ДНК-аптамер Cs5 отвечает заданным критериям, на его основе возможна разработка аптадиагностики ГБ с использованием аптацитохимии по антигену CD133.

Работа выполнена при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение № 075-15-2021-1343 от 4 октября 2021 г.).

Литература:

1. Shigdar S et al., Cancer Lett. 2013 Mar 1;330(1):84-95.
2. Wenjing Lil et al., J. Mater. Chem. B, 2022,10, 2057-2066.

5.8. РОЛЬ СТОХАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В КОЛЕБАНИЯХ КОНЦЕНТРАЦИИ КАЛЬЦИЯ В ТРОМБОЦИТАХ

Молоткова Е.А.¹, Атауллаханов Ф.И.², Балабин Ф.А.²

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

²Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва

molotkova.ea19@physics.msu.ru

Тромбоцит - безъядерная клетка крови, способная активироваться. Активация тромбоцитов играет ключевую роль в остановке артериальных кровотечений и тромбообразовании. В процессе активации кальций выступает универсальным вторичным посредником, его концентрация может увеличиваться на три порядка и резко изменяться, образуя характерные осцилляции.

Реакции тромбоцита на внешние стимулы очень разнообразны, поэтому можно предположить, что осцилляции концентрации ионов кальция ($[Ca^{2+}]$) в клетке "кодируют" характер клеточного ответа. Декодирование колебаний $[Ca^{2+}]$ затруднено тем, что в них присутствует явная стохастическая составляющая. Стохастичность осцилляций неизбежна, так как тромбоцит - клетка малого размера, порядка микрометра, поэтому в его цитозоле может быть всего несколько десятков свободных ионов кальция при характерной концентрации в 10 нМ.

Существуют различные детерминированные модели, в которых осцилляции $[Ca^{2+}]$ генерируются предельным циклом. Такие модели не способны воссоздать разнообразие картин осцилляций, характерных для тромбоцитов, поэтому необходимо построение стохастических моделей.

Целью настоящей работы является определение природы возникновения осцилляций $[Ca^{2+}]$ в тромбоците. Исследование проводится с помощью стохастического моделирования методом Гиллеспи и сравнения с экспериментальными данными [Shepeliuk TO, Masaltseva AA, Nechipurenko DY, Ataulakhonov FI, Grishchuk EL. Res Pract Thromb Haemost. 2021; 5 (Suppl 2)].

Анализ поведения стохастической модели показал, что в системе может наблюдаться иной механизм генерации импульсов, отличный от предельного цикла, описывающий экспериментальные данные. Возможен особый "ждущий режим", реализующий вместо периодических колебаний одиночные импульсы.

5.9. ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ПРЕИМУЩЕСТВО ДВУХСТАДИЙНОЙ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ИНКАПСУЛИНОВЫХ НАНОЧАСТИЦ, ЗАГРУЖЕННЫХ ДОКСОРУБИЦИНОМ, ПО СРАВНЕНИЮ С ОДНОСТАДИЙНОЙ ДОСТАВКОЙ К HER2-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ ОПУХОЛЯМ

Обозина А.С., Зверева С.Д., Сизиков А.А., Шипунова В.О.

Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Институт биофизики будущего, Долгопрудный
anastasiya.obozina@gmail.com

На сегодняшний день одними из перспективных платформ для адресной доставки лекарств считаются самособирающиеся белковые наночастицы, например, инкапсулин [1]. Однако, адресные наноструктуры такого класса всё ещё не одобрены для клинического применения в терапии рака, ввиду их недостаточной терапевтической эффективности и специфичности. Эти проблемы можно решить с помощью двухстадийного подхода к доставке лекарств, при котором сначала происходит адресное нацеливание нетоксичного компонента на раковые клетки с последующим присоединением комплементарного терапевтического модуля, введенного в меньшем количестве.

В данной работе в качестве нетоксичного компонента использовался белковый конъюгат, состоящий из SpyCatcher, флуоресцентного белка mKate2 и узнающего скаффолдового полипептида Z_{HER2:342}. Было показано специфичное взаимодействие данного белка с клетками, сверхэкспрессирующими HER2. Токсичный модуль был представлен охарактеризованными генетически модифицированными инкапсулиновыми наночастицами, несущими пептид SpyTag и загруженными доксорубицином. Было показано, что IC₅₀ двухстадийной доставки в 70 раз ниже по сравнению с одностадийной доставкой доксорубицина к HER2-положительным раковым клеткам. Кроме того, индекс ингибирования роста опухоли *in vivo* при осуществлении двухстадийной доставки увеличился в 1,5 раза по сравнению с одностадийной доставкой. Таким образом, осуществление двухстадийной адресной доставки с использованием белковой платформы является перспективным инструментом для тераностики онкозаболеваний.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России, проект FSMG-2022-0016; № 075-03-2022-107/10.

Литература:

1. Obozina, A. S., et al. (2023). Genetically Encoded Self-Assembling Protein Nanoparticles for the Targeted Delivery In Vitro and In Vivo. *Pharmaceutics*, 15(1), 231.

5.10. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ G-КВАДРУПЛЕКСА biG3T ДЛЯ ДОСТАВКИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ В ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ ГЛИОБЛАСТОМЫ ПАЦИЕНТОВ

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

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

²Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

³НМИЦ нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко, Москва
tchoub511@gmail.com

G-квадруплексы (G4) широко исследуются в качестве перспективных противоопухолевых агентов. Наиболее изученным примером противоопухолевых G-квадруплексов является AS1411, аптамер к нуклеолину. Для G4 AS1411 показана возможность доставки терапевтических агентов селективно в опухолевые клетки [1], и выполнены I и II фазы клинических испытаний [2]. Таким образом, применение G4 структур перспективно для противоопухолевой терапии. В нашей лаборатории был предложен G4 biG3T, для которого показано цитостатическое действие на клетки перевиваемых культур опухолей пациентов с глиобластомой (ГБ) [3]. Противоопухолевый препарат доксорубин (ДОКС) применяют для химиотерапии, и он образует комплексы с G4.

В работе показано, что DOX взаимодействует с biG3T лучше, чем AS1411. Для AS1411 известен транспортер, для biG3T данных нет, поэтому сравнение эффективности доставки в клетку комплексов ДОКСа с AS1411 и с biG3T является одной из задач работы. Для её решения применили метод xCelligence для сравнения скорости проникновения комплексов AS1411 и biG3T с ДОКСом в клетки ГБ пациентов. Флюоресцентным титрованием показана разница в кинетике связывания ДОКСа в структуры G4 AS1411 и biG3T.

Литература:

1. Yazdian-Robati R. et al. Therapeutic applications of AS1411 aptamer, an update review //International journal of biological macromolecules. - 2020. - Т. 155. - С. 1420-1431.
2. Ireson C. R., Kelland L. R. Discovery and development of anticancer aptamers // Molecular cancer therapeutics. - 2006. - Т. 5. - №. 12. - С. 2957-2962.
3. Pavlova G. et al. A Combined Effect of G-Quadruplex and Neuro-Inducers as an Alternative Approach to Human Glioblastoma Therapy //Frontiers in Oncology. - 2022. - Т. 12. - С. 880740.

5.11. РАЗРАБОТКА НОВЫХ РАЗДЕЛЬНЫХ ТИПОВ СЕНСОРОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ *CRYSTAL VIOLET* ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Щекутьева Е.О., Потуданская М.О., Бобков Г.А., Рубель М.С.

Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург
potudanskaya@scamt-itmo.ru

Патогенные бактерии *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophila* и *Pseudomonas fluorescense* вызывают заболевания у лососевых рыб и тем самым снижают экономическую прибыль рыбных хозяйств. Согласно ГОСТу 24896-2013, все методы в аквакультуре основаны на бактериологических посевах (ГОСТ 31659, ГОСТ 26670). Несмотря на точность микробиологических посевов, его главный недостаток - длительное время ожидания результата исследования, может занимать до 6 дней, а также необходимость в наличии специально оборудованном пространстве и обученном персонале. Заменить данный метод может золотой стандарт обнаружения патогенов - ПЦР (полимеразная цепная реакция), но он требует высококвалифицированных персонала, лаборатории и дорогого оборудования.

Данное исследование направлено на выявление и детекцию патогенов с помощью изотермической амплификации и различных типов сенсоров, основанных на аптамерных структурах с использованием флуоресцирующего сигнала crystal violet.

Преимущество изотермической амплификации в сравнении с ПЦР - скорость реакции, менее затратное оборудование и недорогие реактивы.

Сенсоры селективно связываются с продуктом изотермической амплификации и образуют комплекс с молекулой crystal violet. Использование Crystal Violet как активного элемента позволяет увеличить чувствительность и точность диагностики.

Разработанный в ходе исследования тест может быть применен для раннего и надежного выявления патогенных микроорганизмов, что в свою очередь способствует более эффективному контролю и лечению инфекционных заболеваний лососевых.

5.12. РАЗРАБОТКА НОВЫХ РАЗДЕЛЬНЫХ ТИПОВ СЕНСОРОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ *Daroxyl* ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Щекутьева Е.О., Потуданская М.О., Бобков Г.А., Рубель М.С.

Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург
eoshchekuteva@itmo.ru

Данная научная исследовательская работа охватывает актуальную тему развития индустрии рыбоводства в России, с особым уделением разведению лососевых рыб, который составляет 45% рыночной доли. В 2022 году было достигнуто производство 154 тыс. тонн форели и семги, что означает увеличение на 12,5% по сравнению с 2021 годом, свидетельствуя о положительном тренде в данной отрасли. Однако, несмотря на положительное развитие рыбной промышленности, рыбные хозяйства по-прежнему сталкиваются с проблемой инфекционных заболеваний, которые могут привести к серьезным экономическим убыткам, включая закрытие предприятий.

Наиболее распространенными инфекциями у лососевых рыб являются *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophila* и *Pseudomonas fluorescens*. Для выявления этих патогенных бактерий в настоящее время используется культуральный метод, который требует длительного времени ожидания для получения результата, специализированных лабораторий и квалифицированного персонала. Альтернатива культурального метода - полимеразная цепная реакция (ПЦР), которая является более современным методом, но он может быть дорогим и недоступным для малых предприятий.

Цель данного исследования заключается в разработке быстрого и не дорогого метода диагностики, который позволит выявлять патогенные бактерии в малых концентрациях на ранних стадиях инфекции. Для этой цели предлагается разработать метод для диагностики трех наиболее распространенных патогенов лососевых рыб (*Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophila* и *Pseudomonas fluorescens*). Данный метод будет включать в себя этапы выделения ДНК, изотермическую амплификацию целевого участка гена и детекции с использованием специфичных ДНК-сенсоров на основе раздельного ДНК аптаметра, связывающего флуоресцирующий субстрат (*Daroxyl*).

Метод изотермической амплификации представляет собой более чувствительный, быстрый и недорогой способ, чем традиционная ПЦР, и не требует сложного оборудования. Детекция амплифицированных продуктов с использованием ДНК-сенсоров обеспечивает надежность и точность результатов, в отличие от интеркалирующих красителей.

СЕКЦИЯ 6

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ ОСНОВЫ ИММУНИТЕТА

6.1. ЛИЦЕНЗИРОВАННЫЕ НК-КЛЕТКИ NKG2C⁺ - ПЕРСПЕКТИВНАЯ ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЭФФЕКТОРОВ ПРОТИВ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЕЙ

Алексеева Н.А., Бойко А.А., Алексеева Л.Г., Гречихина М.В., Коваленко Е.И.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
nadalex@inbox.ru

НК-клетки - перспективная основа для создания противоопухолевых эффекторов, однако солидные опухоли остаются менее восприимчивыми к их воздействию. Популяция НК-клеток включает как низкодифференцированные регуляторные клетки CD56^{bright}, так и высокодифференцированные лицензированные CD56^{dim}KIR2DL2/3⁺ адаптивные НК-клетки, отличающиеся высокой продолжительностью жизни и повышенной антителозависимой цитотоксичностью. Из адаптивных НК-клеток наиболее изучены клетки, ассоциированные с цитомегаловирусной инфекцией (HCMV) с фенотипом CD56^{dim}CD57⁺NKG2C⁺, которые играют роль в формировании иммунного ответа на HCMV и опухолевые клетки. Для повышения эффективности терапии солидных опухолей особенно важен выбор популяции НК-клеток с наиболее выраженной противоопухолевой активностью. Чтобы оценить цитотоксичность различных популяций НК-клеток в отношении солидных опухолей, мы вырастили 3D-культуры (сфероиды) опухолевых линий BT-474, SKOV-3 и MCF7. Активированные НК-клетки, полученные из крови здоровых добровольцев, инкубировали со сфероидом в течение 24 часов, дегрануляцию НК-клеток оценивали по уровню поверхностной экспрессии CD107a. Также были получены линии опухолевых клеток, модифицированные геном люциферазы, цитотоксическая активность НК-клеток в отношении сфероидов этих мишеней измерена посредством люциферазного теста. НК-клетки были способны элиминировать до 50% клеток-мишеней, более выраженная цитотоксичность наблюдалась в отношении клеток MCF7, менее выраженная - в отношении BT-474. Среди дегранулировавших клеток по сравнению с клетками, не ответившими дегрануляцией на опухолевые культуры, наблюдалась большая доля клеток KIR2DL2/3⁺. Кроме того, в пуле НК-клеток, ответивших на инкубацию со сфероидом MCF7, наблюдалась более высокая доля клеток NKG2C⁺ по сравнению с клетками, ответивших на сфероиды BT-474. Таким образом, существует связь между экспрессией KIR2DL2/3 и NKG2C и способностью НК-клеток отвечать на инкубацию с опухолевыми 3D-культурами. Ранее мы показали, что популяция KIR⁺NKG2C⁺ более восприимчива к ретровирусной трансдукции. Модификация таких НК-клеток позволит получить высокотоксичные эффекторы против солидных опухолей.

Работа поддержана грантами РНФ №22-15-00503 и №21-74-30016.

6.2. ИССЛЕДОВАНИЕ СЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ АЛЛЕРГЕНА СОИ Gly m 4

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

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

²РТУ МИРЭА, Институт тонких химических технологий им. М.В.

Ломоносова, Москва

finkina@mail.ru

Гомологи Bet v 1 составляют один из наиболее клинически значимых классов пылевых и пищевых растительных аллергенов. Известно, что основным сенситизатором данного класса является мажорный аллерген пыльцы березы Bet v 1. Другие же аллергены этого класса обычно вызывают перекрестные с Bet v 1 IgE-опосредованные аллергические реакции на пыльцу и растительные продукты питания. Однако, ряд последних данных указывает на возможное участие других гомологов Bet v 1 в сенситизации, что является причиной неэффективности проводимой рекомбинантным Bet v 1 и его гипоаллергенными аналогами аллерген-специфичной иммунотерапии.

В данной работе мы исследовали сенситизирующую способность пищевого гомолога Bet v 1 - аллергена сои Gly m 4. Для этого была проведена оценка влияния аллергена на экспрессию в эпителиальных клетках генов аларминов IL-33 и TSLP, играющих важную роль в запуске иммунного ответа Th2 типа и развитии аллергических реакций. Для сравнения использовали Pru p 3 - мажорный пищевой аллерген персика и основной сенситизатор класса липид-транспортующих белков, для которого уже была показана способность индуцировать выработку аларминов. Рекомбинантные аллергены получали путем гетерологической экспрессии в клетках *E. coli*. Пищеварительные гидролизаты аллергенов получали, последовательно инкубируя белки с пепсином, а затем смесью трипсина и химотрипсина. В качестве модели кишечного эпителия использовали клеточную линию колоректальной аденокарциномы Caco-2. Клетки Caco-2 инкубировали в течение 4 или 24 часов с растворами аллергенов или их гидролизатами в концентрации 2 мкМ. Далее из клеток эпителия выделяли суммарную РНК и проводили обратную транскрипцию, используя олиго (dT) праймер. Уровни экспрессии референсных генов GAPDH и Act-γ, а также генов аларминов оценивали методом ПЦР в реальном времени с интеркалирующим красителем. Было показано, что Gly m 4 сои и его гидролизат индуцируют экспрессию генов IL-33 и TSLP в клетках кишечного эпителия, но в отличие от Pru p 3 персика, только при инкубации в течение 24 часов.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект №23-75-10116).

6.3. ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ СУБЪЕДИНИЦ ГАМК-А РЕЦЕПТОРОВ В МАКРОФАГАХ ПРИ РАЗНЫХ ТИПАХ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

Михайленко А.Д.¹, Кудрявцев Д.С.²

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

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

Рецепторы γ -аминомасляной кислоты типа А (ГАМК-А) представляют собой семейство ионных каналов, проводимых для хлорид-ионов. По своей структуре они являются гетеропентамерами, образованными из 19 субъединиц: шести α ($\alpha 1$ -6), трех γ ($\gamma 1$ -3), три β ($\beta 1$ -3), три ρ ($\rho 1$ -3) и по одной из δ , ϵ , π и θ [2]. После активации ГАМК-А рецепторов на иммунных клетках наблюдаются противовоспалительные эффекты, например ингибирование пролиферации Т-лимфоцитов [1].

В данной работе в качестве модельной клеточной линии использовали моноцитарную линию THP1. Экспрессию мРНК генов субъединиц ГАМК-А рецепторов исследовали на клетках в неактивированном состоянии (моноциты), при активации РМА (макрофаги M0), а также после поляризации по классическому пути (макрофаги M1). В качестве лигандов для ГАМК-А рецепторов были использованы агонисты ГАМК и мусцимол, 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 обнаружено, что общими субъединицами для всех типов клеток являются $\alpha 3$ и $\alpha 4$. На клетках макрофагов M0 были также обнаружены $\beta 1$ и δ . На макрофагах M1 в контрольном образце появились субъединицы $\beta 2$, $\gamma 1$ и δ . На неактивированных клетках моноцитов THP1 были выявлены дополнительно субъединицы $\beta 2$ и δ . Активация рецепторов ГАМК усилила экспрессию мРНК $\alpha 3$ и $\alpha 4$.

Результаты данной работы в будущем позволят оценить возможность применения лигандов ГАМК-А рецепторов в лечении различных воспалительных заболеваний.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №21-74-10092)

Литература:

1. Activation of GABA(A) receptors inhibits T cell proliferation / Sparrow E. [and other] // PLoS One. - 2021. - №16(5).
2. Tian, J. The GABA and GABA-Receptor System in Inflammation, Anti-Tumor Immune Responses, and COVID-19. / Tian, J., Kaufman, D.L. // Biomedicines. - 2023. - №11.

6.4. ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ hTERT В ВЫЖИВАНИИ КЛЕТОК ПРИ ЕЁ ОВЕРЭКСПРЕССИИ В НК-КЛЕТКАХ, КОТОРЫЕ БЫЛИ ДОПОЛНИТЕЛЬНО МОДИФИЦИРОВАНЫ СУИЦИДНОЙ КОНСТРУКЦИЕЙ НА ОСНОВЕ КАСПАЗЫ 9 (iCasp9)

Паламарчук А.И., Стрельцова М.А.

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

Подходы модификации НК-клеток в терапии рака являются развивающимся направлением. В нашей работе мы трансдуцировали НК-клетки генами *hTERT* и *iCasp9*. *hTERT* кодирует каталитическую субъединицу теломеразы человека, которая выполняет функции удлинения теломер, замедления апоптоза и повышения выживаемости и функциональной активации НК-клеток. *iCasp9* позволяет быстро элиминировать модифицированные клетки в случае развития побочных эффектов при их терапевтическом применении.

Целью нашей работы являлась проверка характеристик, приобретения стареющего фенотипа и функциональной активности клеток hTERT-iCasp9-NK после длительного культивирования. НК-клетки были успешно модифицированы генами *iCasp9* и *hTERT*. Наличие экспрессии и функциональная активность трансгенов была подтверждена. hTERT-iCasp9-NK-клетки демонстрировали повышенную выживаемость при стимуляции IL2+IL15 по сравнению с немодифицированными или модифицированными только одним из генов. hTERT-iCasp9-NK-клетки лучше пролиферировали при стимуляции IL2+K562-mbIL21 по сравнению с iCasp9-NK-клетками. Мы изучили уровень транскрипционных факторов, таких как EOMES и T-BET, которые связаны с развитием и функциональной активностью НК-клеток. iCasp9-NK-клетки характеризовались наибольшей долей НК-клеток EOMES⁺t-BET⁻ через 2 месяца культивирования. Тогда как, наибольшая доля НК-клеток EOMES⁺t-BET⁺, которые связаны с нормальной функциональной активностью, наблюдалась среди hTERT-(iCasp9)-NK-клеток.

Таким образом, НК-клетки были трансдуцированы генами *iCasp9* и *hTERT*, функциональная активность которых была подтверждена в клетках. Также наблюдаемые различия в группах НК-клеток после модификации могли появиться из-за скоординированного действия обоих генов *hTERT* и *iCasp9*. В то время как hTERT играет роль в выживании, вероятная спонтанная активация iCasp9, особенно при его высоких клеточных концентрациях, может изменить опосредованную hTERT выживаемость.

Работа поддержана грантом РНФ № 22-75-00110.

6.5. РАК ОБОДОЧНОЙ КИШКИ ХАРАКТЕРИЗУЕТСЯ ПОВЫШЕННОЙ ПРЕДСТАВЛЕННОСТЬЮ ОПУХОЛЬ-ИНФИЛЬТРИРУЮЩИХ В-КЛЕТОК

Петров Е.А.¹, Малабуйок Д.М.¹, Мокрушина Ю.А.^{1,2}, Абрикосова В.А.¹, Кузьмин Ю.Б.³, Царапаев П.В.³, Кушлинский Н.Е.³, Смирнов И.В.^{1,2}, Терехов С.С.¹, Габиров А.Г.^{1,2}

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

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

³НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, Москва
egor.vyatka@mail.ru

По данным ВОЗ заболеваемость раком продолжает неуклонно расти. Тип злокачественного новообразования и развитие иммунного ответа пациента на опухоль ключевым образом влияют на прогноз. Наиболее распространенными онкологическими заболеваниями являются рак молочной железы, рак легких, рак толстой кишки и рак предстательной железы. Опухоль-инфильтрирующие иммунные клетки способны проявлять как проопухолевое, так и противоопухолевое действие, однако степень инфильтрации опухоли лимфоцитами играет первостепенную роль в формировании противоопухолевого ответа, коррелируя с благоприятным прогнозом терапии для определенных нозологических форм. К опухоль-инфильтрирующим иммунным клеткам относят гетерогенную популяцию, включающую в себя Т-клетки, В-клетки, НК-клетки, макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки. В данной работе мы проанализировали представленность опухоль-инфильтрирующих В-клеток (ТIBs) в солидных опухолях различной нозологии. Была показана повышенная представленность ТIBs в образцах рака ободочной и сигмовидной кишки по сравнению с образцами рака слепой и прямой кишки, а также рака почки. Медианные значения и интерквартильные интервалы доли ТIBs составляли соответственно 11.5%, 4-20% для рака ободочной кишки, 6%, 3-11% - рака сигмовидной кишки, 2.7%, 0.7-3.7% - рака слепой кишки, 2.5%, 0.9-3.6% - рака прямой кишки, 1.4%, 1.0-2.3% - рака почки и 3.0%, 1.8-12% - рака легкого. В то же время, не было выявлено достоверного отличия в представленности ТIBs в образцах с различной стадией рака. Таким образом, было показано, что рак ободочной кишки может быть перспективным резервуаром для поиска онкомаркеров. Дальнейшее исследование разнообразия ТIBs рака ободочной кишки позволит идентифицировать новые молекулярные мишени, способствуя развитию направленной онкотерапии.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 23-44-00043.

6.6. ИЗУЧЕНИЕ СОВМЕСТНОГО ДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ ИММУННЫЙ ОТВЕТ У *Drosophila melanogaster*

Полунина Ю.А.¹, Гасса М.^{1,2}, Качаев З.М.¹, Лебедева Л.А.¹,
Шидловский Ю.В.^{1,3}

¹Институт биологии гена РАН, Москва

²РГУ МИРЭА, Москва

³Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский
университет), Москва
julipolunin@mail.ru

Плодовая мушка *Drosophila melanogaster* успешно используется в качестве модельного организма для изучения NF-κB-зависимого иммунного ответа ввиду его высокой консервативности у различных биологических видов, в том числе человека. Семейство транскрипционных факторов NF-κB у *D. melanogaster* обеспечивает ответ на инфекцию, запуская экспрессию генов антимикробных пептидов (АМП) через сигнальные пути IMD и Toll. Однако, помимо NF-κB, в регуляции экспрессии генов АМП принимают участие и такие факторы транскрипции, как FOXO, AP-1 (c-Jun, Jun), Stat и факторы семейства GATA. Совокупность взаимодействий указанных белков друг с другом и с ДНК в конечном счете определяет паттерн экспрессии АМП-генов.

Цель исследования состоит в изучении совместного участия основного представителя семейства NF-κB, фактора Relish, и его партнеров (FOXO, Stat, GATA, AP-1) в активации иммунного ответа. В результате работы будут получены первые полногеномные карты регуляторных областей, обеспечивающих активацию генов-мишеней при иммунном ответе у дрозофилы, а также будет впервые проведен комплексный анализ взаимодействия нескольких факторов транскрипции, обеспечивающих иммунный ответ.

Для активации иммунного ответа S2 клетки инкубировали с инактивированными культурами *E. coli* и *M. luteus* в течение 3 часов или ночи. Оценивали изменение уровня мРНК АМП-генов после активации иммунного ответа с помощью qPCR. Проводили иммунопреципитацию хроматина с использованием полученных в лаборатории антител к транскрипционным факторам, а затем оценивали обогащение ДНК промоторов генов АМП.

На текущий момент установлено, что инкубация с грамположительными *M. luteus* в течение 3 ч (активация раннего ответа) повышает экспрессию некоторых АМП-генов и привлечение Relish к промоторам этих генов. Также было показано, что FOXO привлекается к промоторам АМП-генов при раннем и позднем иммунном ответе на *E. coli* в присутствии 20-гидроксиэйдизона (20-HE). Мы проведем анализ привлечения Relish и его партнеров в масштабах всего генома с помощью NGS-секвенирования.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 23-14-00348.

6.7. НК-КЛЕТКИ ПАМЯТИ АКТИВИРУЮТСЯ В ОТВЕТ НА ПЕПТИД hCMV, ПРЕДСТАВЛЕННЫЙ АУТОЛОГИЧНЫМИ КЛЕТКАМИ

Устюжанина М.О.^{1,2}, Чудаков Д.М.^{1,2}, Коваленко Е.И.¹

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

²Сколковский институт науки и технологий, Центр наук о жизни, Москва
mashaust1397@gmail.com

НК клетки, участвующие в распознавании и уничтожении инфицированных вирусом клеток, считаются клетками врожденной иммунной системы. Однако, в последнее время отмечается, что НК-клетки также имеют много общих черт с адаптивными лимфоцитами, например, формирование памяти и антиген-специфичность. В этом исследовании изучаются характеристики ответа НК-клеток памяти на пептид цитомегаловируса человека (hCMV) VMAPRTLFL, представленный на лейкоцитарном антигене человека E (HLA-E).

НК-клетки в образцах CD3^{neg} PBMC, полученные от 34 доноров стимулировали пептидом hCMV, исследуя их продукцию IFN γ (внутриклеточное окрашивание), способность к дегрануляции (поверхностный уровень CD107a), активацию (уровень HLA-DR) и пролиферативный потенциал (окрашивание CFSE) в отсутствие дополнительной стимуляции цитокинами. Сигнальные пути, участвующие в продукции IFN γ НК-клетками в составе CD3^{neg} PBMC в ответ на пептид hCMV, изучали с использованием ингибиторов STAT1, STAT3, ERK1/2 и PI3K. РНК секвенирование проводили на предварительно приготовленных библиотеках, полученных из образцов высокопролиферирующих НК-клеток в ответ на пептид VMAPRTLFL, и контрольного неактивного VMAPQSLLL.

Увеличение продукции IFN γ , уровня дегрануляции, активации и пролиферации НК-клеток в CD3^{neg} PBMC при стимуляции пептидом hCMV было показано у доноров, серопозитивных к hCMV-специфическим IgG, по сравнению с нестимулированными контрольными образцами и hCMV-серонегативными донорами. Было показано, что присутствие ингибитора ERK1/2 при стимуляции пептидом hCMV приводит к блокированию продукции IFN γ , присутствие ингибиторов PI3K снижает продукцию IFN γ , но не у всех доноров, тогда как добавление STAT1 или STAT3 или комбинации данных ингибиторов не изменяли уровень IFN γ и даже немного увеличили. Результаты РНК секвенирования подтверждают, что выявленные высокопролиферирующие в ответ на пептид VMAPRTLFL НК-клетки обладают свойствами клеток иммунологической памяти.

Таким образом, результаты этого исследования способствуют познанию адаптивного иммунного ответа НК-клеток против hCMV и могут иметь значение для разработки методов лечения с использованием НК-клеток памяти.

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-75-00135.

6.8. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ *Candida albicans* И АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ПАТТЕРН-РАСПОЗНАЮЩИХ РЕЦЕПТОРОВ В ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ

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

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

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

Candida albicans является условно-патогенным диплоидным дрожжеподобным грибом, который в условиях иммунодефицита способен вызывать у человека инвазивный кандидоз. Кишечный эпителий играет ключевую роль в предотвращении инвазии гриба. Первым этапом защитного иммунного ответа является распознавание клеток гриба посредством паттерн-распознающих рецепторов (PRR), расположенных на поверхности и внутри клеток эпителия. В данной работе мы исследовали влияние *C. albicans* на экспрессию в клетках эпителия генов мембранных рецепторов TLR2 и Dectin-1, распознающих маннаны и β -глюканы клеточной стенки грибка, соответственно. Кроме этого, мы исследовали способность кателицидина человека LL-37 и дефенсина гороха Psd1, обладающих противогрибковыми и иммуномодулирующими свойствами, влиять на экспрессию генов PRR в условиях заражения эпителия клетками *C. albicans* и без него.

В качестве модели кишечного эпителия использовали клеточную линию колоректальной аденокарциномы Сасо-2. Клетки Сасо-2 культивировали в среде RPMI-1640 в CO₂-инкубаторе до получения эпителиального монослоя. Клетки *C. albicans* выращивали на среде Сабуро с добавлением глюкозы. Рекомбинантные пептиды получали методом гетерологичной экспрессии в клетках *E. coli*. В ходе эксперимента монослой Сасо-2 инкубировали в течение 4 или 24 часов с растворами пептидов Psd1 или LL-37 в концентрациях 2 мкМ, с суспензией клеток *C. albicans* в концентрации 5х10⁴ КОЕ/мл или со смесями патогенных грибов и пептидов в тех же концентрациях. Далее энтероциты промывали и проводили выделение суммарной РНК. Кодировующую ДНК получали реакцией обратной транскрипции с олиго (dT) праймером. Уровни экспрессии генов PRR оценивали методом qPCR с интеркалирующим красителем относительно референсных генов. Продукты qPCR анализировали с помощью кривых плавления и методом электрофореза в агарозном геле. Было показано, что *C. albicans*, а также исследуемые пептиды стимулируют иммунный ответ, увеличивая экспрессию генов иммунных рецепторов в клетках эпителия.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект № 22-14-00380).

6.9. РАЗЛИЧНЫЙ ЭФФЕКТ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ИНГИБИТОРОВ ГЕРМИНАЛЬНЫХ ЦЕНТРОВ НА ПРОДУКЦИЮ СПЕЦИФИЧЕСКОГО IgE И IgG1 В НИЗКОДОЗОВОЙ МОДЕЛИ АЛЛЕРГИИ, ИНДУЦИРУЕМОЙ БЕНЗО(А)ПИРЕНОМ

Чудаков Д.Б., Коновалова М.В., Рязанцев Д.Ю., Коцарева О.Д., Фаттахова Г.В.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
boris-chudakov@yandex.ru

Введение. Несмотря на длительное изучение механизмов, ответственных за переключение В-лимфоцитов на синтез IgE, роль в процессе герминальных центров, особенно в случае воспаления, индуцируемого аэрополлютантами, остаётся ещё под вопросом. Целью работы было определить роль активации герминальных центров в низкодозовой модели аллергии, индуцируемой бензо(а)пиреном (BaP).

Методы. Мыши BALB/c, самки, были иммунизированы интраназально дважды в неделю низкой (0,3 мкг) дозой овальбумина (OVA) без дополнительных стимулов или с BaP (4 нг) 10 недель в отсутствии низкомолекулярных ингибиторов или в присутствии ингибитора мастер-регулятора герминальных центров Bcl6 FX1 (20 мг/кг), ингибитора S1PR2 и CXCR4 - хемокиновых рецепторов герминальных центров JTE013 (20 мг/кг) и AMD3100 (5 мг/кг) соответственно. Продукция специфических антител была измерена методом ИФА.

Результаты. Введение BaP и OVA индуцировало достоверную продукцию IgE, $p < 0.01$ в сравнении с OVA без стимулов (титры IgE 200 ± 40 и 90 ± 30 соответственно) и IgG1, $p < 0.001$ (титры IgG1 $12 \pm 4 \cdot 10^5$ и $1.1 \pm 0,3 \cdot 10^5$ соответственно). Введение специфического ингибитора Bcl6 достоверно ($p < 0.05$) активировало продукцию специфического IgE (титры 500 ± 200) и достоверно снижало продукцию специфического IgG1 ($p < 0.05$, $n_{bns} 2.5 \pm 0.5 \cdot 10^5$). Специфические ингибиторы S1PR2 и CXCR4 рецепторов не оказывали достоверного влияния на продукцию специфического IgE (титры 350 ± 190 и 310 ± 110 в соответствующих группах). Однако, ингибитор CXCR4 полностью и достоверно ингибировал продукцию специфического IgG1 ($p < 0.001$, IgG1 титры $0.22 \pm 0.04 \cdot 10^5$).

Закключение. Формирование герминальных центров и локализация В-лимфоцитов в данных структурах более важна для продукции специфических IgG1, но не IgE, в модели аллергии, индуцируемой аэрополлютантом. Экстрафолликулярно активированные В-лимфоциты могут быть ответственны за продукцию специфического IgE в данном случае.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ в рамках проекта № 23-25-10044.

СЕКЦИЯ 7

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ КЛЕТОЧНЫХ ПРОЦЕССОВ И МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

7.1. ВЛИЯНИЕ ТРЕХПЕТЕЛЬНОГО БЕЛКА ЧЕЛОВЕКА SLURP-2 НА ЭКСПРЕССИЮ микроРНК, РЕГУЛИРУЮЩИХ РЕЭПИТЕЛИЗАЦИЮ РАН

Горностаева Т.Я.^{1,2}, Шлепова О.В.^{1,2}, Шуленко М.А.³, Кукушкин И.Д.^{1,2}, Кирпичников М.П.^{2,3,4}, Люкманова Е.Н.^{2,3,4}

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

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

³Шеньчжэньский МГУ-ППИ Университет, Шэньчжэнь, Китай

⁴Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия

gornostaevatamara@gmail.com, ekaterina-lyukmanova@yandex.ru

Секретируемый белок человека SLURP-2 является трехпепельным белком, принадлежащим семейству Ly-6/uPAR. Данный белок играет роль ауто/паракринного регулятора и повышает пролиферацию и миграцию кератиноцитов. Было показано, что этот эффект опосредован взаимодействием с никотиновыми и мускариновыми ацетилхолиновыми рецепторами (nAХР и mAХР, соответственно), находящимися на поверхности клеточной мембраны кератиноцитов. Предполагаемыми мишенями действия SLURP-2 являются nAХР типа $\alpha 4\beta 2$, $\alpha 3\beta 2$ и $\alpha 7$, а также mAХР типа M1 и M3. Известно, что nAХР и mAХР регулируют процессы миграции и пролиферации клеток, активируя различные внутриклеточные сигнальные пути, в том числе контролируя экспрессию микроРНК в клетках. Поскольку SLURP-2 взаимодействует с nAХР и mAХР, его влияние на рост и миграцию кератиноцитов, может быть обусловлено изменением экспрессии микроРНК.

В данной работе показано влияние SLURP-2 на экспрессию микроРНК в кератиноцитах линии Het1A. С помощью ПЦР в реальном времени была изучена экспрессия 12 микроРНК, регулирующих гомеостаз кожи. При проведении анализа экспрессии была проведена нормализация, в качестве референсного гена использовали стабильно экспрессируемую эндогенную микроРНК-U6. Было показано, что экспрессия miРНК-203 и miРНК-218 повышается в кератиноцитах после 24-часовой инкубации с 1 мкМ SLURP-2. Известно, что сверхэкспрессия miРНК-203 снижает выработку воспалительных факторов, связанных с псориазом, в кератиноцитах, а miРНК-218 положительно регулирует сигнальный путь Wnt и действует как динамический регулятор развития клеток кожи. Таким образом, влияние SLURP-2 на рост и миграцию кератиноцитов может быть обусловлено подавлением воспаления и активацией Wnt-пути.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ № 23-24-00636.

7.2. СОВМЕСТНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ИНГИБИТОРОВ EGFR И ERK С БЕЛКОМ ЧЕЛОВЕКА SLURP-1 ТОРМОЗИТ МИГРАЦИЮ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ

Кириченко А.В.^{1,2}, Михайлова И.Н.³, Люкманова Е.Н.^{1,2,4}, Бычков М.Л.¹

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

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

³РОНЦ им. Блохина, Москва, Россия

⁴Шэньчжэньский МГУ-ППИ Университет, Биологический факультет, Шэньчжэнь, Китай

lyukmanova_ekaterina@smbu.edu.cn

Меланома является агрессивной и трудноизлечимой неоплазией, поэтому поиск новых терапевтических мишеней для терапии меланомы является важной задачей биомедицины. Одной из таких мишеней может служить никотиновый рецептор ацетилхолина типа альфа 7 ($\alpha 7$ -nAChR), активация которого связана с онкопрогрессией. Рекombинантный аналог секретируемого трехпетельного белка человека SLURP-1, ингибирующий $\alpha 7$ -nAChR, эффективно подавляет рост и миграцию опухолевых клеток, однако некоторые клетки метастатической меланомы резистентны к рекombинантному SLURP-1. Целью данной работы являлось исследование сочетанного действия SLURP-1 и химиотерапевтических веществ - ингибитора рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) - gefitinib, и ингибитора киназы ERK - PD 98059 в клетках, полученных от пациента с метастатической меланомой mel H (РОНЦ им. Блохина, Москва, РФ).

Сочетанная обработка клеток mel H gefitinibом и SLURP-1, а также PD 98059 и SLURP-1 приводила к значительному торможению миграции клеток в тесте на "заращение раны". Причем, для PD 98059 и его комбинации с SLURP-1 эффект торможения миграции сохранялся в течение 48 часов, а комбинация gefitinib и SLURP-1 тормозила миграцию клеток только при 16- и 24-часовой инкубации, а при 48-часах подвижность клеток была уже неотличима от контроля. Иммуноанализ Bio-Plex показал, что уже через 16 часов gefitinib и его комбинация с SLURP-1 ингибировали активность EGFR, однако через 48 часов комбинация SLURP-1 с gefitinibом не влияла на активность рецептора, что соответствует полученным ранее данным, согласно которым, эффект SLURP-1 в клетках эпидермоидной карциномы A431 опосредован не только $\alpha 7$ -nAChR, но и EGFR. При этом как PD 98059, так и его комбинация с SLURP-1 ингибировали активность ERK1/2. Также анализ Bio-Plex выявил, что комбинация PD 98059 и SLURP-1, но не вещества по отдельности, ингибировала активность p38 α MAP киназы, опосредующей миграцию клеток меланомы. С помощью иммуноанализа что комбинации gefitinib и SLURP-1, а также PD 98059 и SLURP-1 при 48-часовой инкубации с клетками mel H приводили к падению концентрации во внеклеточной среде васкулярного фактора клеточной адгезии VCAM1, который опосредует миграцию и инвазию клеток меланомы. Исследуемые вещества не приводили к изменению концентраций молекул адгезии S- и E-селектинов, PECAM1, а также факторов дифференцировки клеток ICAM1 и ICAM3.

Таким образом, gefitinib и SLURP-1, а также PD 98059 и SLURP-1 при сочетанном применении тормозят миграцию клеток метастатической меланомы, при этом эффект PD 98059 и SLURP-1 длится дольше за счет ингибирования p38 α MAP киназы. Полученные данные свидетельствуют о перспективности разработки новых противомеланомных средств на базе молекулы SLURP-1.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 23-74-00040).

7.3. РОЛЬ АКТИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ ПРОТОН-УПРАВЛЯЕМЫХ КАНАЛОВ ASIC В КЛЕТКАХ ЛЕЙКЕМИИ ЧЕЛОВЕКА

Лысикова Д.В., Сударикова А.В.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург
d.lysikova@outlook.com

Протон-управляемые ионные каналы ASIC (acid sensing ion channels) участвуют в регуляции дифференцировки, пролиферации и миграции опухолевых клеток различного происхождения. Изучение их экспрессии, а также конкретных внутри- и внеклеточных факторов, контролирующих активность ASIC в опухолевых клетках крови, находится на начальном этапе. Ранее в клетках лейкемии человека K562 были обнаружены каналы ASIC1a, а их блокирование мамбалгином-2 тормозило рост клеток. Кроме того, в клетках K562 были охарактеризованы эпителиальные натриевые каналы ENaC (epithelial Na⁺ channels), принадлежащие к тому же семейству DEG/ENaC, что и ASIC, и имеющие схожую структуру. Активность ENaC была связана с динамикой актинового цитоскелета, на основании чего они были названы актин-управляемыми. Целью данной работы являлась функциональная идентификация возможного субъединичного состава каналов ASIC в клетках K562, а также вклада примембранных актиновых филаментов в их активность.

В конфигурации записи токов от всей мембраны клетки (whole-cell) метода патч-кламп при быстром снижении pH раствора с 7.4 до 5.5 были зарегистрированы протон управляемые токи с двумя различными кинетическими характеристиками. Примерно в 80% экспериментов регистрировали токи с кинетикой, свойственной для ASIC1a (однокомпонентный быстро инактивирующий ток), которые блокировались селективным ингибитором псалмотоксином-1 в диапазоне концентраций 20-200 nM. Другие каналы имели двухфазный ток с промежуточным, более медленно инактивирующимся состоянием, характерным для ASIC3. Экспрессия субъединиц ASIC1a и ASIC3 в клетках K562 была подтверждена с помощью ОТ-ПЦР анализа и иммунофлуоресцентной микроскопии. При добавлении деструктора актинового цитоскелета цитохалазинаД (ЦитД, 10 мкг/мл) во внеклеточный раствор при понижении pH до 5.5 для ASIC1a-типичных токов в некоторых экспериментах наблюдался эффект сопряжения: после быстрой активации протон-чувствительных токов следовало развитие активности натриевых каналов с кинетикой, свойственной актин-управляемым ENaC. Наблюдаемый эффект может объясняться присутствием в мембране K562 функционально-активных каналов-гетерокомплексов, включающих ASIC1a и субъединицы ENaC (возможно, α и γ -ENaC). Кроме того, в ответ на быстрое снижение pH мы наблюдали уменьшение амплитуды ASIC3-активируемых токов на ~40% (n=3) при действии ЦитД. Таким образом, мы показали, что в лейкозных клетках функционируют два типа каналов ASIC, и их активность зависит от состояния актинового цитоскелета.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 23-25-00126.

7.4. ИНТЕРНАЛИЗАЦИЯ КОМПЛЕКСОВ АНТИГЕН-АНТИТЕЛО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ pH-ЗАВИСИМЫХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ GD2-СПЕЦИФИЧНЫХ АНТИТЕЛ

Макарова А.О.^{1,2}, Свирищевская Е.В.¹, Калиновский Д.В.¹, Костенко В.В.^{1,2}, Деев С.М.¹, Холоденко Р.В.^{1,3}

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

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

³ООО "Реал Таргет", Москва
alina.makarova0012@yandex.ru

Способность и скорость интернализации комплексов антиген-антитело являются важными характеристиками, необходимыми для реализации цитотоксических эффектов конъюгатов антител с лекарством (ADC). В большинстве случаев опухолевые маркеры, на которые нацеливают ADC, являются трансмембранными белками с известными механизмами эндоцитоза. Для опухолевого маркера ганглиозида GD2, малой молекулы небелкового происхождения, локализованной только на внешнем монослое мембраны, механизмы интернализации изучены слабо.

pH-зависимый краситель rHAb Dye, для которого характерна флуоресценция в кислой среде при попадании в лизосомы, конъюгировали с GD2-специфичными антителами в различных форматах посредством тиол-малеимидной реакции. В реакции с красителем были использованы полноразмерные антитела, мини-антитела и scFv-фрагменты GD2-специфичных антител. Соотношения компонентов и условия реакции были подобраны для получения стабильных конъюгатов с эффективной пришивкой красителя и полным сохранением антиген-связывающих свойств GD2-связывающих молекул. Интенсивность флуоресценции различных форматов конъюгатов отличалась, но проявлялась исключительно на GD2-позитивных опухолевых линиях. Разгорание флуоресценции наблюдалось через 1.5 часа после добавления к клеткам, а максимум накопления достигался через 24 часа. Наблюдалась значительная колокализация pH-зависимого красителя с лизотрекером, что подтверждает его преимущественное накопление в лизосомах. В тоже время была выявлена мембранная локализация красителя, не связанная с лизосомами, что требует дополнительного изучения. Модифицированные красителем rHAb Dye GD2-специфичные антитела демонстрируют специфичную, быструю и эффективную интернализацию комплексов антиген-антитело и являются удобным инструментом изучения эндоцитоза ADC.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-14-00277.

7.5 ВЛИЯНИЕ СЕНОЛИТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА МАКРОФАГИ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ОПУХОЛЬЮ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ МЫШИ

Пухальская Т.В.^{1,2}, Богданова Д.А.^{1,2}, Демидов О.Н.^{1,2}

¹Научно технологический университет "Сириус", Сириус

²Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

tomapukhalskaya@gmail.com

Ассоциированные с опухолью макрофаги (TAMs) являются ключевыми компонентами микроокружения опухоли (TME). Однако потенциальные биологические механизмы и прогностическая ценность сенесцентных макрофагов в TME неизвестны. В последних работах было отмечено негативное влияние сенесцентных макрофагов, которое связано с неблагоприятным прогнозом заболевания.

Костномозговые макрофаги (BMDMs) мышей C57BL/6 получали путем дифференцировки клеток предшественников в течение 6 дней в среде, содержащей 20 нг/мл рекомбинантного M-CSF мыши. Для создания TAMs модели, полученные BMDMs культивировались в течение 24 ч с кондиционной средой от клеток аденокарциномы толстой кишки мыши MC38.

Для того чтобы оценить влияние сенолитических препаратов Dasatinib (D) и Quercetin (Q) на TAMs *in vitro* моделировали хроническое воспаление путем добавления TNF (10 нг/мл) и IFN- γ (50 нг/мл) и культивировали в течение 3 дней с добавлением сенолитиков D (0,1 мкМ) и Q (1 мкМ), после чего оценивали изменения уровня экспрессии генов, ассоциированных с остановкой клеточного цикла и секреторным фенотипом ассоциированным с сенесцентностью, а также анализировали иммунофенотип макрофагов до и после ассоциации с опухолью с помощью ПЦР в режиме реального времени.

Результаты, полученные в ходе эксперимента, продемонстрировали увеличение мРНК *Arg1* и циклин-зависимой киназы *Cdkn1a* в TAMs ассоциированных с MC38 в 15,3 и 1,3 раза соответственно. Также было показано, что применение комбинации сенолитиков DQ в модели хронического воспаления в опухоли приводит к снижению экспрессии мРНК *Cdkn1a* и *Il-6* в TAMs в 9,6 и 1,1 раза.

Полученные результаты указывают на то, что Dasatinib и Quercetin демонстрируют тенденции к перепрограммированию TAMs в TME, что может свидетельствовать об их противоопухолевом потенциале. Представленные данные указывают на необходимость дальнейшего изучения использования сенолитиков в противоопухолевой терапии.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 19-75-20128 и Министерства науки и высшего образования РФ (Соглашение № 075-10-2021-093; Проект НИР-ИМБ-2102).

7.6. МАГНИТНО-ПОЛИМЕРНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ ФОТОИНДУЦИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ СО СВЕРХЭКСПРЕССИЕЙ РЕЦЕПТОРА HER2

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

Рак молочной железы (РМЖ) - одна из самых актуальных проблем современной клинической онкологии. Одним из средств терапии и диагностики данного заболевания являются наночастицы (НЧ). Среди всего огромного разнообразия наноматериалов особое внимание заслуживают магнитные наночастицы за счет возможности бесконтактного управления перемещением за счет внешнего магнитного поля. Благодаря включению в PLGA-матрицу, полученные частицы обладают низкой системной токсичностью, а также могут быть модифицированы антителами для обеспечения селективного воздействия на опухоли. IR783 относится к цианиновым красителям и обладает фотооптическими свойствами. Благодаря точному нацеливанию на поверхность раковых клеток наночастицы могут снизить системную токсичность, связанную с традиционными методами лечения онкозаболеваний.

Данная работа направлена на синтез и модификацию магнитных наночастиц, инкапсулированных в PLGA-наночастицы и нагруженных фотосенсибилизатором IR783, обладающим фототермическим свойством при активации светом в диапазоне 775-786 нм. В ходе работы была подобрана оптимальная концентрация магнитных частиц для инкапсулирования в PLGA-наночастицу, а также проведена серия экспериментов по включению магнетита в PLGA с различным соотношением молочной и гликолевой кислоты и выбран оптимальный вариант на основании анализа включения магнитных частиц в PLGA-наночастицы методом сканирующей электронной микроскопии. Синтезированные частицы были модифицированы полипептидом, селективно распознающим рецептор HER2. HER2 - рецептор, сверхэкспрессирующийся на клетках рака молочной железы и являющийся важным онкомаркером. Разработанные наночастицы были протестированы на HER2-сверхэкспрессирующих раковых клетках: исследовано связывание с клетками методом проточной цитометрии и продемонстрирована селективная токсичность при облучении ИК-светом. Таким образом, полученные наночастицы обладают рядом свойств для диагностики и терапии, таким образом являясь эффективными агентами для онкотераностики РМЖ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ №22-73-10141 (синтез полимерных агентов) и Минобрнауки России, № 075-03-2023-106, проект FSMG-2023-0015 (характеристика агентов) и № 075-03-2023-106, проект FSMG-2022-0016 (*in vitro* исследования).

7.7. МУЛЬТИОМИКСНЫЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ФЕРРОПТОЗА

Сулягин В.К.¹, Ледеява В.С.¹, Корженевский Д.А.², Кудряшова О.М.²,
Шохина А.Г.^{1,2}

¹РНИМУ им. Н.И.Пирогова, НИИ трансляционной медицины, Москва

²Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России, Москва
sulyaginvk@gmail.com

Ферроптоз - тип неапоптотической программируемой клеточной гибели, отличительными чертами которой являются железозависимый характер процесса и накопление продуктов перекисного окисления липидов. На данный момент существует ряд работ, указывающих, что мембранные белки отдельных клеточных компартментов, например, митохондрий, эндоплазматического ретикулума (ЭПР) или аппарата Гольджи (АГ) могут приносить специфический вклад в развитие ферроптоза. Использование различных омиксных подходов позволяет детектировать отличия в экспрессии белков при индукции ферроптоза и формулировать новые гипотезы, в том числе, о вкладе различных внутриклеточных компартментов в данный процесс. При этом зачастую возникает необходимость обогатить белковую фракцию исследуемого компартмента, что возможно сделать при помощи Proximity labeling метода, опосредуемого рекомбинантной аскорбатпероксидазой APEX2.

Данная работа была посвящена исследованию тотального протеома и транскриптома культуры мышинных фибробластов Pfa1 при разных способах индукции ферроптоза: генетической посредством тамоксифена, опосредующего нокаут ключевого антиферроптотического белка - глутатионпероксидазы 4 (GPX4), а также такими известными химическими индукторами ферроптоза, как ML210, эрастин и L-бутионин сульфоксмин.

Анализ полученных в ходе работы данных позволил выделить отдельные паттерны генов-ответчиков, среди которых мы обнаружили как общие, так и специфические для определенных способов индукции ферроптоза. Это позволяет предположить, что воздействие на различные компоненты цистеин/глутатион/GPX4 оси активирует специфические внутриклеточные каскады, которые могут не совпадать для разных способов индукции, но в конечном счете приводят к одному результату - гибели клетки в ферроптозной модальности. Дальнейший анализ обогащенных фракций мембранных белков ЭПР, митохондрий и АГ позволит уточнить вклад данных внутриклеточных компартментов в процесс инициации ферроптоза.

7.8. РОЛЬ МЕТАЛЛОПРОТЕАЗ SpAN И SpAN10 В ДОРСО-ВЕНТРАЛЬНОМ СКЕЙЛИНГЕ ЭМБРИОНА МОРСКОГО ЕЖА

Тимошина П.С., Ерошкин Ф.М., Паршина Е.А., Орлов Е.Е., Зарайский А.Г.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
timoshina-polina@yandex.ru

Эмбриональный скейлинг - это явление изменения пространственной разметки эмбриона пропорционально его размеру. При разделении эмбриона на ранних стадиях развития на две части у многих животных образуются нормальные внешне эмбрионы-близнецы уменьшенного размера. В нашей лаборатории была высказана и экспериментально доказана на примере эмбрионов шпорцевой лягушки гипотеза о том, что эмбриональный скейлинг возможен в том случае, если существуют регулирующие морфогенетические градиенты гены-скейлеры, экспрессия которых существенно изменяется в ответ на изменение размера эмбриона. В результате белки, кодируемые скейлерами, имеют возможность регулировать градиенты белков-морфогенов, размечающих структуру эмбриона, в зависимости от его размера [1]. Мы продолжили изучение скейлинга на модели размер-зависимой регуляции дорсо-вентральной оси у эмбриона морского ежа.

Мы отработали методику массового разделения эмбрионов морских ежей *Strongylocentrotus pallidus* и *Strongylocentrotus droebachiensis* на стадии двух бластомеров с последующим культивированием эмбрионов половинного размера. С помощью высокопроизводительного секвенирования транскриптомов (NGS) нами были обнаружены гены секретируемых астациновых металлопротеаз SpAN и SpAN10, чья экспрессия в уменьшенных эмбрионах увеличивается в 4 раза. С помощью ко-экспрессии этих металлопротеаз в эмбрионах шпорцевой лягушки вместе с одним из ключевых морфогенов дорсо-вентральной оси Chordin и последующего иммуноблоттинга мы установили, что SpAN и SpAN10 являются ингибиторами Chordin. Chordin, в свою очередь, играет роль ингибитора другого морфогена - BMP, градиент которого размечает дорсо-вентральную ось. В подтверждение скейлинга градиента BMP мы показали с помощью иммуногистохимического окрашивания на маркер активации BMP-пути pSmad1/5/8 уменьшение области активации этого пути в эмбрионах половинного размера. Важно, что нокдаун SpAN с помощью микроинъекций морфолиновых олигонуклеотидов в эмбрионах нормального размера также приводит к уменьшению области активации BMP-пути. Полученные результаты позволяют предположить, что SpAN и SpAN10 действительно являются генами-скейлерами, регулирующими пространственную разметку эмбриона морского ежа.

Работа была поддержана грантом РФФ № 23-74-30005.

Литература:

1. Orlov E.E. et al. Targeted search for scaling genes reveals matrixmetalloproteinase 3 as a scaler of the dorsal-ventral pattern in *Xenopus laevis* embryos. Dev Cell. 2022;57(1):95-111.e12.

7.9. ВЛИЯНИЕ АКТИВАЦИИ МЕХАНОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ КАНАЛОВ Piezo1 НА ОБРАЗОВАНИЕ СФЕРОИДОВ ИЗ КЛЕТОК ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ МЕЛАНОМЫ ЧЕЛОВЕКА

Хайруллина З.М., Васильева В.Ю., Чубинский-Надеждин В.И.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург
khairyllinaa@mail.ru

Меланома - это агрессивный тип рака кожи, вызываемый злокачественным преобразованием меланоцитов. Клинически меланома имеет несколько стадий, связанных с миграцией и инвазией клеток через слои кожи, быстрым распространением и метастазированием. Поиск новых сигнальных путей, контролирующих прогрессирование меланомы, является важной задачей для исследователей. В работе *Shoji и др. (2023)* показана ключевая роль механочувствительных (МЧ) ионных каналов TRPV2 в патофизиологических реакциях меланомы. Повышение уровня экспрессии МЧ каналов Piezo1 также наблюдается в меланоме, что может коррелировать с ее злокачественным прогрессированием.

Сфероиды, образованные из трансформированных клеток, наиболее точно имитируют условия прогрессирования опухоли *in vivo*. В процессе формирования 3D структур происходит существенное изменение микроокружения и механических свойств клеток, а также их морфология, поляризация и межклеточные контакты, что может регулироваться активностью МЧ каналов. Целью данной работы было исследование роли МЧ каналов Piezo1 в формировании сфероидов из клеток агрессивной меланомы человека линии SK-MEL-2. Мы подтвердили присутствие Piezo1 в клетках SK-MEL-2 методом ОТ-ПЦР и иммунофлуоресцентным окрашиванием. Функциональная активность Piezo1 в мембране клеток SK-MEL-2 была подтверждена методом patch-clamp и измерением уровня внутриклеточного кальция при селективной химической активации веществом Yoda1. Далее мы исследовали, может ли активация Piezo1 оказывать влияние на образование сфероидов из меланомы SK-MEL-2 путем добавления 10 мкМ Yoda1 в клеточную суспензию. Мы обнаружили, что в присутствии Yoda1 не происходило уплотнения клеток по сравнению с контролем. При переносе сфероидов на чашку Петри было подтверждено, что в присутствии Yoda1 сфероиды не образовывались, а клетки были нежизнеспособными. Тогда как клетки из контрольных сфероидов на адгезивной поверхности расплзались. Таким образом, добавление Yoda1 полностью блокировало образование сфероидов из агрессивной клеточной линии меланомы SK-MEL-2, что указывает на регуляторную роль Piezo1 в этом процессе.

Работа поддержана грантом РНФ № 22-74-10037.

7.10. БЕЛОК ЧЕЛОВЕКА SLURP-1 КАК ПРОТОТИП ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ *IN VIVO*

Шлепова О.В.^{1,2}, Шуленко М.А.³, Шипунова В.О.^{1,2}, Бычков М.Л.¹, Деев С.М.^{1,4,5}, Кирпичников М.П.^{1,6}, Шенкарев З.О.^{1,2}, Люкманова Е.Н.^{1,2,3,6}

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

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

³Шеньчжэньский МГУ-ППИ Университет, Шэньчжэнь, Китай

⁴Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия

⁵Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия

⁶Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва

shlepova.olga@yandex.ru

Никотиновый ацетилхолиновый рецептор $\alpha 7$ -типа ($\alpha 7$ -nAChR) способствует росту и метастазированию опухолей эпителиального происхождения. Секретируемый белок человека из семейства Ly6/uPAR, SLURP-1, является специфическим негативным модулятором $\alpha 7$ -nAChR, экспрессируемого эпителиальными клетками. Известно, что SLURP-1 подавляет рост клеток карцином и глиом *in vitro*, а повышенная концентрация SLURP-1 в крови пациентов с карциномой поджелудочной железы положительно коррелирует с лучшей выживаемостью пациентов.

В данной работе мы исследовали механизмы антипролиферативной активности рекомбинантного SLURP-1 в клетках эпидермоидной карциномы A431, а также активность SLURP-1 и синтетического пептида, имитирующего его петлю I (Oncotag) на модели эпидермоидной карциномы *in vivo*. SLURP-1 ингибировал митогенные пути и факторы транскрипции в клетках A431, а его антипролиферативная активность была связана с $\alpha 7$ -nAChR. Ежедневное внутривенное введение мышам SLURP-1 или Oncotag в течение 10 дней подавляло рост опухоли и метастазирование, а также вызывало устойчивые изменения в экспрессии генов и микроРНК в опухолях. И SLURP-1, и Oncotag не продемонстрировали острой токсичности. Примечательно, что Oncotag приводил к более длительному подавлению проонкогенной передачи сигналов и снижению экспрессии проонкогенной микроРНК-221 и повышению экспрессии белка KLF4, отвечающего за контроль дифференцировки клеток. С помощью аффинной экстракции было показано взаимодействие SLURP-1 как с $\alpha 7$ -nAChR, так и с рецептором эпидермального фактора роста (EGFR), в то время как Oncotag демонстрировал селективное взаимодействие с $\alpha 7$ -nAChR. Таким образом, селективное ингибирование $\alpha 7$ -nAChR препаратами на основе Oncotag может стать перспективной стратегией терапии рака.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 23-74-00040).

СЕКЦИЯ 8

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

8.1. РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ С ДОЗАЗАВИСИМОЙ ДЕТЕКЦИЕЙ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ОСНОВЕ ДНК-НАНОСЕНСОРОВ

Ачкасова М.А., Шкоденко Л.А.

Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург
marina-achkasova@yandex.ru

Согласно данным ВОЗ, инфекции нижних дыхательных путей входят в пятерку лидирующих причин смертности по всему миру. Часто такие инфекции вызываются условно-патогенными микроорганизмами, которые обнаруживаются в образцах как больных, так и здоровых людей, что затрудняет идентификацию истинного возбудителя. Сегодня диагностика строится на определении количества клеток предполагаемого патогена и их порогового числа, при котором микроорганизм возбуждает инфекцию. В лабораторной практике применяются классический метод ПЦР в реальном времени и микробиологический посев, требующие должного лабораторного оснащения, квалифицированного персонала и времени, из-за чего такой подход сложно доступен в слаборазвитых и отдалённых населённых пунктах.

Цель настоящего исследования - разработка экспресс-системы дозозависимого определения инфекций с амплификацией выбранных целевых фрагментов патогенов методом изотермической амплификации SPA (Stem-loop primer assisted isothermal amplification) и детекцией продуктов амплификации ДНК-наносенсорами на основе G-квадруплекса. Количество ДНК микроорганизма в образце будет определяться сравнением флуоресцентного сигнала тестируемого образца с калибровочной кривой, построенной на основе флуоресцентных сигналов детекции фрагмента ДНК тигра в точно известных количествах. Тигр выбран как экзотическое животное, чья ДНК не встретится в больнице и не попадёт в тест-систему с пробой.

На сегодняшний день выбраны SPA-праймеры для гена бета-актина как контроля выделения и амплификации, а также амплифицирован специфичный участок митохондрия тигра *Panthera tigris* isolate WEFCOM mitochondrion, клонированный далее в культуру *E. coli* K12 с помощью вектора pJET (что гарантирует постоянную доступность ДНК тигра в лаборатории). Следующие шаги проекта предполагают: (1) оптимизацию SPA амплификации ДНК тигра; (2) конструирование ДНК-сенсоров на последовательность ДНК тигра в программах Unafold и NUPAC; (3) построение калибровочной кривой на основе сигналов детекции ДНК-сенсорами продуктов амплификации SPA целевого фрагмента ДНК тигра.

Данный метод контролей будет использоваться в тест-системе детекции пневмонии, в связи с чем на целевые патогены подобраны праймеры для SPA-амплификации и ДНК-наносенсоры.

Работа выполняется в рамках РНФ: "Разработка Point-of-Care диагностической системы на основе ДНК-наносенсоров для выявления инфекций респираторного тракта и их лекарственной устойчивости".

8.2. ПОЛУЧЕНИЕ ЭКЗОСОМ, ЗАГРУЖЕННЫХ АЛЛОКОЛХИЦИНОИДОМ С ЖИРНЫМ ХВОСТОМ

Воденникова А.А.^{1,2}, Костенко В.В.^{1,3}, Ситдикова А.Р.⁴, Щегравина Е.С.⁴,
Федоров А.Ю.⁴, Свирицевская Е.В.¹

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

²Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ", Москва

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

⁴Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород
wodemikanasty@mail.ru

Экзосомы (ЭС) являются внеклеточными везикулами, выбрасываемыми всеми клетками и состоящими из липидной оболочки, внутри которой находятся белки, РНК, ДНК и другие молекулы. ЭС экспонируют на своей поверхности ряд молекул адгезии, таких как тетраспанины, что делает их перспективной системой доставки противоопухолевых и других препаратов. Целью данной работы была загрузка экзосом ингибиторами тубулина аллоколхичиноидами (АК). ЭС выделяли из плазмы крови мышей методом двухступенчатого центрифугирования. Плазму крови получали из мышей CD1, освещали, концентрировали высокомолекулярную фракцию на мембране с отсечкой 100 кДа, разводили фосфатным буфером и центрифугировали при 20 тыс g 30 мин. Для загрузки ЭС препаратами АК использовали три метода: культивирование фибробластов мышей линии 3Т3 в присутствии АК с последующим выделением экзосом; встраивание производного АК, меченного родамином, в выделенные из крови ЭС с помощью ультразвуковой бани и с использованием производного АК с жирным хвостом простым смешиванием с последующей очисткой АК центрифугированием. Показали, что без липидного хвоста встраивания производных АК не происходит, что подтверждено методами проточной цитометрии, конфокальной микроскопии и МТТ. При смешивании липофильного производного с ЭС быстро формируется дисперсия. После отмывки ЭС от свободного производного АК препарат ЭС содержал АК, что было подтверждено его активностью в цитотоксическом тесте. Встраивание АК не снижало экспрессии тетраспанинов, не меняло размера ЭС, не уменьшало их концентрации. Таким образом, предложен метод загрузки ЭС противоопухолевыми препаратами, содержащими жирный хвост, что потенциально может быть использовано для разработки систем доставки в терапии рака.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-13-00158.

8.3. Sf9 CELL LINE AS A MODEL FOR INSECTISIDE CYTOTOXICITY ASSAY

Dobronos M.¹, Chepurnyh T.¹, Kondrashov F.²

¹Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Science, Moscow, Russia

²Okinawa Institute of Science and Technology, Okinawa, Japan
dobronos.ma@phystech.edu

The excessive use of insecticides in agriculture has resulted in severe environmental hazards, public health concerns, and growing resistance rates. Traditionally, insecticide research involves exposing live insects or larvae to the substance. Advantages such as cost-effectiveness, ease of cultivation, and fast proliferation make insect cell lines an appealing alternative option. Potentially, insect cell lines could be used to quickly test the effectiveness of specific substances. In this work, we attempted to use the Sf9 cell line to study the toxicity effects of three different insecticides and determine their IC₅₀.

The Sf9 cell line was derived from pupal ovarian tissue of a fall armyworm *S. frugiperda* and was cultivated in the mid-log growth phase with over 95% cell viability. The MTT assay was performed to find out the cytotoxicity rates. Based on the literature review, we selected a set of parameters to be examined. Sf9 cell suspensions were seeded into 96-well culture plates (2×10^5 , 4×10^5 , and 10^6 cells/ per well). After 12h recovery, varying concentrations of insecticides were added for 24 h, 48h, 72h, or 96h incubations. The insecticides were chosen based on their MoA. *Chlorantraniliprole* interacts with the ryanodine receptor, *lambda-Cyhalothrin* prevents the closure of the voltage-gated sodium channels in axonal membranes, and toxicity effects of *Flonicamid* at molecular and cellular level are poorly understood. To avoid impact on cellular metabolism and viability rates we performed a solvent (ethanol, methanol, DMSO) cytotoxicity assay and chose 2% DMSO for the experiment setup.

The most effective protocol for testing insecticides on the Sf9 cell line was developed and optimized. The tested insecticides significantly inhibited cell growth at concentrations between 2 and 2000 μ M and a concentration of insecticides resulting in 50%-inhibition of cell growth were: 237,9 and 242,6 μ M for *lambda-Cyhalothrin* and *Chlorantraniliprole*, respectively. The toxicity of *Flonicamid* could not be confirmed in this experiment because of the wide variation in the data. The test system was proven to be valid as the cytotoxicity of insecticides in Sf9 cells reflects its insecticidal action at least in part. Considering the cell proliferation factor during long 72h incubations is interesting, but to include this factor in the analysis of results this point requires a more detailed analysis. Surprisingly, neurotoxic insecticides have shown their effects on Sf9 cells, giving further interest in investigating their mechanisms of action and factors in the resistance formation process. The present study is important to evaluate the potential of MTT tests on Sf9 cells as a simple and rapid method for determining insecticide toxicity in the lab without the use of live insects.

8.4. РАЗРАБОТКА ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМЫХ АДРЕСНЫХ СИСТЕМ ДОСТАВКИ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ К КЛЕТКАМ-МИШЕНЯМ

Киреева О.К., Обозина А.С., Зверева С.Д., Никитин М.П., Шипунова В.О.

Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Институт биофизики будущего, Москва
kireeva.ok@phystech.edu

На сегодняшний день борьба с онкологическими заболеваниями является приоритетной задачей современной медицины. Наиболее эффективным подходом к решению данной проблемы является одновременное улучшение методов диагностики и терапии злокачественных опухолей. На роль агента с тераностическими свойствами подходят наночастицы, которые способны связываться с детектирующими или терапевтическими лигандами. Широко известны способы получения наночастиц путем комбинирования флуоресцентных зондов с нацеливающими белковыми молекулами, неиммуноглобулиновыми скаффолдами - аффибоди. Для повышения эффективности адресной доставки агентов диагностики и терапии к клеткам-мишеням представляется перспективным совместное присутствие нескольких молекул аффибоди на общей платформе. Белковые каркасы идеально подходят на эту роль за счет самостоятельной сборки из субъединиц, а их поливалентные свойства позволяют связывать большое число лигандов. "Инкапсулины" или "нанокмартменты" - частицы белкового каркаса (инкапсулины первого типа), выделенные из термофильной бактерии *Thermotoga maritima*. В природных условиях копии протомера инкапсулина собираются в сферические структуры, которые участвуют в различных аспектах бактериального метаболизма. В данной работе была разработана методика выделения инкапсулина первого типа в нативных условиях из клеточной культуры *E. coli* и его дальнейшая очистка. На основе этого белка были получены наночастицы за счет соединения SpyTag-инкапсулинового каркаса и SpyCatcher-аффибоди Z_{HER2:342}, меченного красным флуоресцентным белком mKate2. SpyTag/SpyCatcher модификация последовательностей ДНК инкапсулина и аффибоди позволяет им прочно связаться. Аффибоди взаимодействует с рецептором HER2, который экспрессируется на поверхности клеток рака молочной железы, яичников, желудка, матки. Внутрь белкового каркаса был загружен цитостатический препарат доксорубин, а к поверхности присоединён краситель сульфациан 7 (Cy7). Индекс ингибирования роста опухолевых клеток, HER2-индуцированных и HER2-сверхэкспрессирующих, при лечении полученными наночастицами у мышей составил 95,7%, что, вероятно, позволит в будущем применять данную технологию в клинической практике.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России, проект FSMG-2022-0016; № 075-03-2022-107/10.

8.5. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ОБРАЗОВАНИЯ БИОПЛЕНОК НА ВОДНОЙ ФАЗЕ ПРОЦЕССА ГИДРОТЕРМАЛЬНОГО ОЖИЖЕНИЯ

Клементьев С.В.¹, Куликова Ю.В.², Сироткин А.С.¹

¹Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань

²Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград
slava_klementev3715@mail.ru

Гидротермальное ожижение - термохимический процесс преобразования влажной биомассы в сырую нефть. Высокомолекулярные соединения, присутствующие в биомассе разлагаются на низкомолекулярные под действием воды, которая находится в критическом состоянии (условия проведения процесса ожижения $T = 200-350^{\circ}\text{C}$, $P = 4,5-5 \text{ МПа}$, $t = 20 \text{ минут}$) [1]. Однако, помимо нефти в процессе ожижения образуется большое количество водной фазы, компоненты которой необходимо обезвреживать.

Согласно предыдущим исследованиям по оценке количественного состава водной фазы гидротермального ожижения избыточной биомассы активного ила, нами было показано, что более 60% органических соединений водной фазы являются биоразлагаемыми, и имеет смысл их обезвреживания с использованием биологических методов. Следует принимать во внимание, что для очистки высококонцентрированных сточных вод лучше всего подходит иммобилизованная биомасса, так как по сравнению с суспензией в биопленках клетки более устойчивы к агрессивным факторам среды.

В работе была рассмотрена способность бактерий в составе изолятов S2, S7, S9, S11, полученных из активного ила очистных сооружений ПАО "Нижнекамскнефтехим", к образованию биопленок на водной фазе гидротермального ожижения активного ила.

Было показано, что полученные изоляты способны формировать биопленку, используя в качестве субстрата компоненты водной фазы. Культуры S7 и S11 были отмечены как наиболее активные продуценты биопленки по сравнению с изолятами S2 и S9, в среднем на 41 и 43%, соответственно. Совместное культивирование изолятов S7 и S11, показало, что они способны к образованию более прочной биопленки по сравнению с монокультурами, в среднем на 96%.

Согласно полученным экспериментальным результатам, наиболее перспективными культурами для иммобилизации с целью обезвреживания компонентов водной фазы, гидротермального ожижения избыточного активного ила являются изоляты S7 и S11 в составе биопленок.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 23-14-00064.

Литература:

1. Review on hydrothermal liquefaction aqueous phase as a valuable resource for biofuels, bio-hydrogen and valuable bio-chemicals recovery / A. Swetha, S. ShriVigneshwar, K. P. Gopinath [et al.] // Chemosphere. - 2021. - Vol. 283. - P. 131248.

8.6. ЗАМЕНА СИГНАЛЬНЫХ ПЕПТИДОВ У БЕТА-ЦЕПЕЙ ГЛИКОПРОТЕИНОВЫХ ГОРМОНОВ ПРИВОДИТ К УВЕЛИЧЕНИЮ ТИТРА ГЕТЕРОДИМЕРОВ ДЛЯ СТАБИЛЬНО ТРАНСФИЦИРОВАННЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ

Колесов Д.Э., Синегубова М.В., Орлова Н.А., Воробьев И.И.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

52ru111@mail.ru

Одной из причин низкого уровня секреции рекомбинантных белков в культивируемых клетках млекопитающих может быть неоптимальная последовательность сигнального пептида, обеспечивающего транслокацию синтезируемых полипептидных цепей в люмен эндоплазматического ретикулула. При экспрессии моноклональных антител в клетках СНО было показано, что замена природных сигнальных пептидов на гетерологичные приводила к многократному повышению титров секретируемых антител. В случае гликопротеиновых гормонов человека - фолликулостимулирующего (ФСГ), лютеинизирующего (ЛГ), тиреотропного (ТТГ) и хорионического гонадотропина (ХГ), одинаковая для всех гормонов β -цепь, по-видимому, синтезируется клетками в избытке относительно различных β -цепей и, как было показано для ЛГ, служит шапероном для фолдинга β -цепи. Ранее в лаборатории было обнаружено, что при получении ТТГ и ФСГ в клетках СНО наблюдается недостаток β -цепей, вне зависимости от используемых генетических конструкций.

Для каждого из 4 гормонов было получено 4 генетических конструкции, отличавшихся только сигнальным пептидом у β -цепи (сигнальные пептиды человеческого сывороточного альбумина, азуроцидина, общей для семейства альфа-цепи и контрольный нативный сигнальный пептид индивидуальной для каждого гормона бета-цепи). Экспрессионные кассеты включали открытые рамки считывания β -цепи, α -цепи и дигидрофолатредуктазы, соединенные внутренними сайтами связывания рибосом вируса энцефаломиокардита. Данными конструкциями электротрансфицировали клетки СНО, и после селекции и одного раунда геномной амплификации определяли концентрацию гетеродимера методом ИФА и содержание свободных цепей при помощи вестерн-блоттинга. Для ЛГ, ХГ и ТТГ наблюдается увеличение концентрации гетеродимеров в культуральной среде в 2, 2.5 и 6 раз соответственно при использовании сигнального пептида человеческого сывороточного альбумина, по сравнению с контрольными нативными сигнальными пептидами. Увеличение уровня биосинтеза β -цепей гормонов при замене природных сигнальных пептидов на гетерологичные позволит создавать клетки-продуценты с многократно увеличенной удельной продуктивностью и, таким образом, расширить область применения гонадотропных гормонов в медицине и ветеринарии.

8.7. ФЛЕКСИМЕРНЫЕ НУКЛЕОЗИДЫ 8-АЗА-7-ДЕАЗАГИПОКСАНТИНА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СРЕДСТВА

Кондрашова Е.М.¹, Миронов А.Ф.^{2,3}, Елецкая Б.З.³, Матюгина Е.С.¹

¹Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

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

³Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, Институт биохимической технологии и нанотехнологии, Москва

evgenya.condrashova@gmail.com

Серия флексимерных нуклеозидов 8-аза-7-деазагипоксантина была синтезирована и проверена их антибактериальная активность. Получение флексимерных нуклеозидов с природными типами углеводных фрагментов (рибозы и 2-дезоксирибозы) проводили с помощью метода ферментативного трансгликозилирования, так как флексимерные основания **1a** и **1b** являются субстратами пуриннуклеозидфосфорилазы *E. coli*. Было обнаружено, что в случае соединения **1a** реакция протекает неспецифично и сопровождается образованием побочных продуктов, в то время как наличие бензильной защитной группы у основания **1b** обеспечивало региоселективность реакции. В результате защищенное основание **1b** было выбрано для ферментативного гликозилирования, а также для химического синтеза рибонуклеозида **3** по классической методике Форбрюггена. Оба метода показали свою высокую эффективность в синтезе рибозида. Помимо флексимеров с природными углеводными остатками, синтезировали нуклеозиды с 5'-норкарбодиклическим фрагментом (Схема 1).

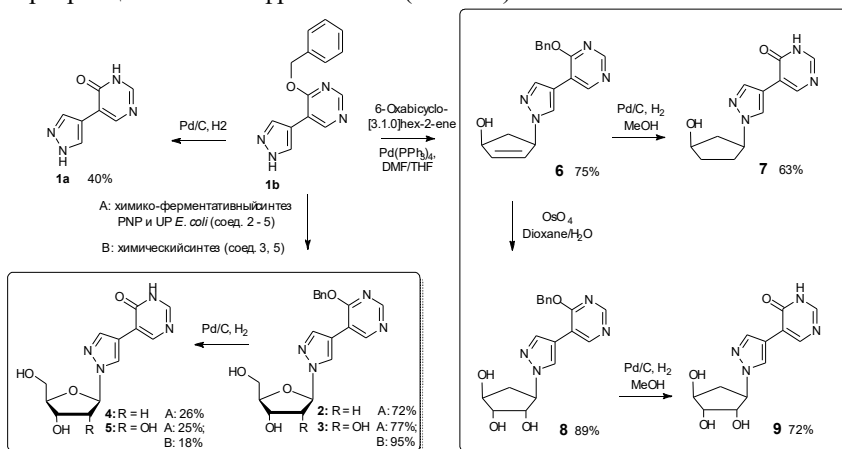


Схема 1. Получение модифицированных флексимерных аналогов

Проведен антибактериальный скрининг синтезированной серии соединений в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий. Выявлено, что 5'-норкарбоциклический нуклеозид 9 в концентрации 13 мкг/мл ингибировал рост *M. smegmatis* mc2 155, соединение 6 в концентрации 20 мкг/мл ингибировало рост *M. tuberculosis*. Соединения 6 и 9 выбраны для дальнейшей оптимизации и разработки потенциальных антибактериальных средств.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ 21-13-00429 и № 19-74-10048

8.8. СОЗДАНИЕ ФОТООТВЕРЖДАЕМЫХ СКАФФОЛДОВ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ ПРИ КРИТИЧЕСКОМ КОСТНОМ ДЕФЕКТЕ

Кузьяева В.И.¹, Сочилина А.В.^{1,2,3}, Гулялек Б.⁴, Сергеев И.С.^{1,5}, Демина П.А.^{1,2,3}, Сучков М.Ю.³, Акасов Р.А.^{1,2,3}, Хайдуков Е.В.^{1,2,3}, Генералова А.Н.^{1,2}

¹ФНИЦ "Кристаллография и фотоника" РАН, Институт фотонных технологий, Москва

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

³Московский педагогический государственный университет, Москва

⁴РУДН, НИИ молекулярной и клеточной медицины, Москва

⁵Сколковский институт науки и технологий, Москва

kuzyaeva.valeriya@mail.ru

Костная ткань представляет собой динамичную систему, способную к регенерации при небольших повреждениях. Однако, когда дефект превышает критический размер, кость может потерять способность к самостоятельному восстановлению, приводя к инвалидизации пациента, что делает эту проблему одной из наиболее актуальных в медицине. Решением могут стать специальные тканеинженерные конструкции - скаффолды, способные стимулировать регенерацию тканей. Наиболее перспективной стратегией является формирование скаффолдов непосредственно на месте критического костного дефекта. Для реализации этой задачи необходима разработка специальных фотокомпозиций, способных формировать нерастворимые и биосовместимые структуры при облучении светом. Многообещающими материалами для получения таких фотокомпозиций являются эндогенные полимеры гиалуроновая кислота (ГК) и желатин.

В данной работе для получения ГК и желатина, способных к фотоиндуцируемой сшивке (мГК, мЖел), была использована химическая модификация глицидилметакрилатом для введения в полимеры двойных связей, способных вступать в радикальную реакцию под действием света. Для активации процесса фотосшивки модифицированных ГК и желатина использовали фотоинициатор I-го типа 2,4,6-триметилбензоилфосфинат лития (LAP). Для имитации критического костного дефекта проводили операцию по удалению куска кости теменной части черепной коробки диаметром ~5 мм на малых животных (мышях) под наркозом. В образованное отверстие вводили фотокомпозицию и проводили фотоотверждение под действием УФ излучения (365 нм).

Прижизненная компьютерная томография животных в течение полутора месяцев эксперимента показала восстановление костной ткани по сравнению с прооперированным контролем. При этом добавление аутологичной измельченной кости в фотокомпозицию значительно ускоряло этот процесс и увеличивало площадь восстановленной ткани.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №21-79-10384.

8.9. ОПТИМИЗАЦИЯ СТАДИИ ПРЕЦИПИТАЦИИ ПРИ ЭКСТРАКЦИИ ГЕНОМНОЙ ДНК БАКТЕРИЙ ИЗ ФЕКАЛИЙ

Курносов А.С., Глазунова Е.В., Злобовская О.А., Шипулин Г.А.

Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью Федерального медико-биологического агентства, Москва
AKurnosov@cspfmbsa.ru

Введение. Одним из наиболее простых и дешевых методов для выделения бактериальной геномной ДНК (гДНК) является комбинация химического лизиса с последующей преципитацией гДНК, при этом для визуализации осадка при выделении гДНК часто используются соосадители.

Цель и задачи. Целью данного исследования было сравнение влияния различных соосадителей (гликоген, полиакриламид и декстраны-20, -70, -2000) на визуализацию осадка и качество выделения бактериальной гДНК из фекалий. Также была проверена методика очистки гликогена с помощью окисления перекисью водорода и применения реакции Фентона.

Основные результаты. ДНК была выделена с использованием различных соосадителей и компонентов набора "РИБО-преп" (ФГБУ "ЦСП" ФМБА России). Проведена оценка результатов экстракции с использованием ПЦР-РВ в реакциях определения общей бактериальной ДНК, а также отдельных представителей грамположительных и грамотрицательных бактерий. Кроме того, оценивали результаты для контрольных образцов (контроли выделения и ингибирования). В процессе работы было выявлено, что используемый гликоген контаминирован бактериальной ДНК, поскольку получен экстракцией из устриц. Чтобы очистить гликоген от ДНК, были разработаны два протокола обработки: с помощью перекиси водорода и на основе реакции Фентона. Последний привел к успешному избавлению от примесей, с сохранением визуализации и свойств осадка.

Выводы. При выделении без соосадителя наблюдались потери образцов, до 75-90%. При этом протестированные соосадители приводили к сходному выходу выделенной ДНК, однако удобство работы существенно различалось. Так, осадок с гликогеном хорошо различим, но нестабилен. Также оказалось, что гликоген может содержать бактериальную ДНК, и был разработан протокол его очистки с использованием реакции Фентона. Лучшие результаты продемонстрировали декстраны (-70 и -2000), так как они хорошо визуализируются, при этом осадок стабилен на стадиях отмывок. Таким образом, выбор соосадителя играет важную роль в упрощении и стандартизации процесса выделения, что оказывает значительное влияние на результаты анализа.

8.10. ПОИСК ОПУХОЛЬ-СПЕЦИФИЧНЫХ АНТИТЕЛ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕКОНСТРУИРОВАННЫХ РЕПЕРТУАРОВ В-ЛИМФОЦИТОВ

Малабуйок Д.М.¹, Петров Е.А.¹, Мокрушина Ю.А.^{1,2}, Смирнов И.В.^{1,2},
Терехов С.С.¹, Габиров А.Г.^{1,2}

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

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

malabuyokd@mail.ru

Онкологические заболевания остаются одной из самых распространенных причин смерти в современном мире, поскольку не существует единой методики лечения для всех пациентов вследствие высокой гетерогенности опухолей на генно-молекулярном уровне. Опухоль-инфильтрирующие В-лимфоциты (Т1В) играют важную роль в микроокружении опухоли, но их роль в противоопухолевом иммунитете остается неоднозначной. В-лимфоциты способны синтезировать антитела на поверхностные опухолевые антигены, проявляя противоопухолевую активность. Основная цель работы - это изучение ландшафта биоразнообразия опухоль-инфильтрирующих В-лимфоцитов (Т1В) с использованием микрофлюидных технологий реконструкции природного репертуара Т1В и комбинаторных подходов молекулярного дисплея. Библиотеки scFv были клонированы в генетическую конструкцию для гетерологической продукции scFv, заякоренных на поверхности дрожжевой клетки. Полученные дрожжевые библиотеки были использованы для поиска опухоль-специфичных антител с использованием технологий дрожжевого дисплея и биоэппенинга. Разнообразие scFv в процессе отбора дрожжевых клонов, связывающихся с опухолевыми клетками, оценивали с использованием высокопроизводительного секвенирования и наиболее представленные варианты Ab 3.4 и 3.2 реконструировали в формате полноразмерных антител класса IgG1. Используя методы протеомики, было показано, что потенциальным опухолевым антигеном Ab 3.4 является гетеродимер интегрин $\alpha 3 \beta 1$. Антиген Ab 3.4 был представлен на поверхности раковых клеточных линий HCT116, MDA-MB-231, BT474, а также он был идентифицирован в образцах опухолевых клеток пациентов с раком кишки. Конъюгат цитостатика монометил ауристатина Е (ММАЕ) с моноклональным антителом 3.4 обладал ярко выраженной цитотоксической активностью в отношении культуры клеток линии тройного негативного рака молочной железы MDA-MB-231. Полученные результаты открывают новые возможности в области направленной онкотерапии и позволяют перейти к предварительным испытаниям *in vivo* для дальнейшей разработки биопрепаратов на основе Ab 3.4.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 23-44-00043.

8.11. РАЗРАБОТКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОСТАВА ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ МЕТОДОМ ИЗОТЕРМАЛЬНОЙ ПЕТЛЕВОЙ АМПЛИФИКАЦИИ

Мартыусова В.Г.^{1,2}, Середина Т.А.³, Седых С.Е.^{1,2}

¹Новосибирский государственный университет, Новосибирск

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

³ООО "Биодайв", пгт. Сириус

vladislavamartyusova@gmail.com

Исследование посвящено разработке набора реагентов, позволяющих качественно определить наличие ДНК куриного мяса, а также свинины, говядины, индейки и сои в исследуемой пищевой продукции и выявить возможную фальсификацию. В качестве метода детекции использована петлевая изотермальная амплификация (LAMP) и портативный экспресс-анализатор PCRBOT, разработанный компанией "Биодайв". Система детекции позволяет провести выделение образца ДНК и определить наличие специфических последовательностей ДНК в составе пищевого продукта в течение 40 минут.

В результате работы подобраны специфичные для анализируемых организмов праймеры для идентификации мтДНК, разработан алгоритм на языке Python для автоматизации подбора праймеров для LAMP, наборы реагентов интегрированы в картриджи, получены результаты определения последовательностей ДНК для нескольких продуктов питания, содержащих мясо в различной степени переработки.

Разработанный продукт может найти применение в различных областях пищевой промышленности, торговых системах, сельском хозяйстве. Разработанные праймеры могут быть использованы для анализа состава продуктов питания в лабораториях региональных центров, созданных по модели Сириуса.

Авторы работы выражают благодарность коллективу участников проектной смены "Большие вызовы" 2023 года за вклад в реализацию проекта.

8.12. НАНОАГЕНТЫ ДЛЯ КОНТРОЛИРУЕМОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В ЦЕЛЕВЫЕ ТКАНИ

Мочалова Е.Н.^{1,2}

¹Научно-технологический университет "Сириус", Сочи

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

Уникальные физико-химические свойства наночастиц обуславливают высокий потенциал их применения в области биомедицины, особенно для адресной доставки лекарств. За счет функционализации поверхности наночастиц распознающими биорецепторами (например, антителами) и загрузки в их структуру больших доз терапевтических молекул можно выполнять высокоспецифичное распознавание патогенных клеток и индуцировать их избирательное уничтожение. Наночастицы также нашли широкое применение в области биовизуализации, где свойства самих наночастиц или дополнительных маркеров в их структуре могут использоваться для обнаружения тех или иных заболеваний с высокой чувствительностью.

Основным ограничением, препятствующим широкому внедрению наноматериалов в клиническую практику, является их быстрое выведение из кровотока мононуклеарной фагоцитарной системой. Один из наиболее перспективных методов преодоления этого ограничения - цитоблокада, которая заставляет мононуклеарную фагоцитарную систему усиливать выведение эритроцитов за счет введения антиэритроцитарных антител и, таким образом, существенно продлевает циркуляцию наночастиц в крови. Однако, на пути к клиническому применению этого подхода возникает вопрос, может ли индуцированное подавление фагоцитоза представлять опасность для здоровья.

В данном докладе представлен цикл работ, посвящённый исследованию взаимодействий агентов на основе наночастиц с эукариотическими клетками с целью создания систем для высокоспецифичного нацеливания на опухолевые клетки и их избирательного уничтожения; разработке биофизических методов количественного анализа нацеливания частиц на клетки и фагоцитоза эритроцитов; а также изучению влияния цитоблокады на ингибирование иммунной системы в сравнении с противораковыми нанолекарствами, уже одобренными для клинического применения.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России, соглашения 075-03-2023-106 (проект FSMG-2022-0016, исследование биораспределения наночастиц) и 075-10-2021-093 (проект NMB-RND-2120, исследование циркуляции наночастиц).

8.13. МЕТОД LT-TIPS-NF КАК ПЛАТФОРМА ПОЛУЧЕНИЯ СКАФФОЛДОВ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

Мясоедов М.С.¹, Генералова А.Н.^{1,2}, Сочилина А.В.¹, Простякова А.И.¹,
Вихров А.А.^{1,2}

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

²НИЯУ "МИФИ", Москва

rapuguain@gmail.com

Одной из основных задач тканевой инженерии является создание биодеградируемых, биосовместимых полимерных матриксов (скаффолдов), которые могли бы обеспечивать адгезию, рост и пролиферацию клеток. В данной работе для получения таких материалов использовался природный полисахарид хитозан. Выбор хитозана определяется тем, что он является биосовместимым, биодеградируемым биополимером, обладающим антибактериальной, биоадгезивной активностью и другими полезными свойствами. С целью получения минерализованных гелей-миметиков костной ткани впервые был использован метод низкотемпературного термоиндуцированного разделения фаз в незамерзающих условиях (LT-TIPS-NF). Впервые показано, что гелеобразование водно-спиртовых растворов хитозана возможно не только с использованием солянокислых растворов [1], но и с использованием уксуснокислых растворов хитозана. При этом гелеобразование уксуснокислых растворов происходит исключительно в растворах с высокой ионной силой. С этой целью в раствор хитозана вводили CaCl_2 , который в последствии трансформировали в гидроксипатит, за счет постобработки алкогелей растворами фосфатов натрия. Известно, что гидроксипатит улучшает пролиферацию остеобластов. В работе были установлены минимальные и максимальные концентрации CaCl_2 , обеспечивающие гелеобразование уксуснокислых растворов хитозана. Установлено, что повышение концентрации CaCl_2 от 0,2% до 1,2% приводит к уменьшению времени гелеобразования с 18 ч. до 10 мин. и повышению температуры размягчения пресформированных алкогелей с $8,1 \pm 0,7$ до $40,2 \pm 0,5^\circ\text{C}$. При этом эластичность гелей снижалась при повышении содержания неорганической фазы. Модуль Юнга для гелей, полученных из растворов, содержащих 0,4, 0,8, 1,0% CaCl_2 , составил 350 ± 35 , 120 ± 10 и 70 ± 5 кПа, соответственно. Меняя соотношение хитозана и источника Ca^{2+} , можно регулировать физико-химические свойства скаффолдов. Все разработанные гидрогели являются ненабухающими, в течение, по меньшей мере, 2-х недель, объем изделий увеличивался менее, чем на 2%. Таким образом, разработана новая методика получения минерализованных гидрогелей хитозана, перспективных для регенерации костной ткани.

Литература:

1. Sochilina A. V. et al. Fabrication of moldable chitosan gels via thermally induced phase separation in aqueous alcohol solutions //International Journal of Biological Macromolecules. - 2022. - Т. 215. - С. 501-511.

8.14. ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН D27A/L30A И D125A НА СВОЙСТВА АЛЛЕРГЕНА ОЛЬХИ Aln g 1

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

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

²Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный
azotic2000@gmail.com

Гомологи главного аллергена берёзы Bet v 1 представляют собой класс растительных аллергенов, способных связывать липиды. Известно, что содержащиеся в растительных продуктах липиды способны выступать в качестве иммунных адъювантов и значительно повышать сенсibilизационный потенциал аллергенных белков. В качестве объекта исследования нами был выбран клинически значимый аллерген из пыльцы ольхи Aln g 1, который является гомологом главного аллергена пыльцы берёзы Bet v 1. Для изучения роли конкретных аминокислотных остатков в связывании с липидными лигандами были произведены следующие аминокислотные замены: D27A/L30A и D125A.

В соответствии с выбранными точечными мутациями был разработан способ получения нуклеотидных последовательностей, кодирующих Aln g 1 с необходимыми заменами, а также способ получения мутантных форм данного белка с использованием экспрессионного вектора pET-His8- и клеток *E. coli* BL21(DE3). Очистка рекомбинантных белков включала их выделение из растворимых фракций клеточного белка, металлохелатную хроматографию, диализ и гель-фильтрацию. Гомогенность полученных мутантных вариантов Aln g 1 D27A/L30A и D125A была подтверждена с использованием методов MALDI-TOF масс-спектрометрии и SDS-электрофореза в ПААГ. Для оценки цитотоксичности полученных белков был проведен резазурин-тест с мононуклеарными клетками периферической крови (PBMC) и с клеточной суспензионной линией промиелоцитарного лейкоза THP-1. Было показано, что полученные белки не проявляют выраженного цитотоксического действия и могут быть использованы для проведения дальнейших экспериментов с эукариотическими клеточными линиями. Для изучения способности мутантных форм связывать липидные молекулы были использованы стеариновая C18:0 и олеиновая C18:1 жирные кислоты, а для оценки эффективности связывания использовался флуоресцентный зонд – 2-п-толуидинилнафталин-6-сульфоновая кислота (TNS), флуоресценция которой резко падает при её вытеснении из гидрофобной полости белка тестируемыми лигандами.

Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ (проект № 23-75-10116).

8.15. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ЦЕЛЯХ СНИЖЕНИЯ ВЫБРОСОВ ЛЕТАУЩИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ПРИ ОБРАЩЕНИИ С БИООРГАНИЧЕСКИМИ ОТХОДАМИ

Романовская К.С.

Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, Москва
romanovskaya-ks@rudn.ru

При разложении биоорганических отходов происходит деструкция многокомпонентного органического вещества, в результате чего образуются как простые неорганические соединения, так и летучие органические соединения (ЛОС), обладающие высокой биологической активностью и интенсивным неприятным запахом.

На сегодняшний день большую актуальность приобретает разработка и апробация новых биопрепаратов, обеспечивающих ускорение трансформации и деструкции биоорганических отходов, образующихся в результате хозяйственной деятельности и жизнедеятельности человека, снижение негативного воздействия на компоненты окружающей среды и здоровье человека одорантов - ЛОС, совершенствование механизмов аналитического контроля с использованием методов биотестирования.

Цель работы состоит в определении качественного и количественного состава летучих органических соединений, образующихся при разложении белковых фракций биоорганических отходов и птичьего помета и выявлении динамики изменения состава выбросов ЛОС под действием экспериментального микробиологического препарата, используемого для уменьшения запаха и ускорения биodeградации при воздействии на белковые фракции биоорганических отходов и птичьего помета.

Всего в отобранных пробах газовых выбросов обнаружено одиннадцать классов ЛОС, среди которых присутствуют сильно пахнущие серо- и азотсодержащие вещества (одоранты). В результате проведенного анализа полученного массива данных выделены приоритетные ЛОС, присутствующие во всех пробах и имеющие содержание, достаточное для отслеживания динамики их изменения.

Поставленные эксперименты показали положительную динамику воздействия биопрепарата на анализируемые вещества. Предложена классификация ЛОС по степени подверженности воздействию экспериментального биопрепарата.

В результате исследования сделан вывод об эффективности использования методов биотехнологии для снижения массовой доли отдельных компонентов в выбросах ЛОС при разложении биоорганических отходов. Отмечена необходимость исследований в направлениях подбора микроорганизмов и оценки их биотехнологического потенциала, а также внедрения механизмов утилизации преобладающих одорантов.

8.16. ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛИМЕРНО-МЕТАЛЛИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ В КАЧЕСТВЕ АГЕНТОВ ДЛЯ ФОТОТЕРМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ

Терешина Е.Д.¹, Черкасов В.Р.¹, Шипунова В.О.^{1,2}

¹Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Институт биофизики будущего, Москва

²Научно-технологический университет "Сириус", Сочи
tereshina.ed@phystech.edu

Одним из многообещающих подходов к лечению онкозаболеваний является фототермическая терапия (ФТТ), которая включает в себя облучение участков опухоли светом, вызывающее локальное нагревание и избирательное разрушение опухолевых клеток. Этот подход является неинвазивным, позволяет контролировать воздействие на ткани организма, путем пространственной локализации, регулировки интенсивности и длительности облучения светом, а также концентрации фотосенсибилизатора. Благодаря этому, ФТТ может значительно уменьшить системную токсичность лекарственных препаратов, а также увеличить эффективность и специфичность лечения онкозаболеваний. Агентами для ФТТ могут выступать органические фотосенсибилизаторы или неорганические наночастицы с плазмонным резонансом или магнитной гипертермией. Квантовые точки (КТ) серебра являются одними из наиболее эффективных фотосенсибилизаторов благодаря своим уникальным физическим и химическим свойствам. При этом инкапсулирование их в полимерную матрицу может улучшить биосовместимость и биодоступность, а также значительно повлиять на время циркуляции этих наноструктур.

В данной работе были синтезированы квантовые точки на основе тройного халькогенида серебра методом горячего впрыска. Катионы серебра, индия и цинка смешивали с растворителем - октадеценом и лигандами - олеиламином и додекантиолом, затем полученную смесь нагревали до высокой температуры. Далее в смесь быстро вводили анионы серы, что приводило к образованию нанокристаллов, структуры типа "ядро/оболочка". Главные достоинства данного метода: получение квантовых точек с узким распределением по размерам и небольшое число этапов синтеза. Синтезированные КТ были затем включены в матрицу полимера PLGA методом двойной эмульсии, приводя к получению полимерно-металлических наночастиц. Полученные гибридные структуры были всесторонне охарактеризованы биофизическими методами. Были продемонстрированы их фототермические свойства - а именно, нагрев на 25°C в течение 10 минут при облучении лазером с длиной волны 405 нм и цитотоксические свойства - а именно, 70% клеточная гибель при облучении лазером с той же длиной волны в течение 4 минут. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования описанных наноструктур как агентов для локально-фотоиндуцированной терапии солидных опухолей.

Исследование выполнено при поддержке Минобрнауки России №075-10-2021-093, проект NMB-RND-2120 (получение наноагентов) № 075-03-2023-106, проект 0714-2020-0004 (*in vitro* тесты).

8.17. ЭКСПРЕССИЯ СЛИТЫХ С КРИСТАЛЛИЗУЕМЫМ ФРАГМЕНТОМ ИММУНОГЛОБУЛИНА G1 БЕЛКОВ В КЛЕТКАХ CHO

Шайфутдинов Р.Р., Гаямова Е.А., Воробьев И.И., Орлова Н.А.

ФИЦ Биотехнология РАН, Институт биоинженерии, Москва
carabustauricus@mail.ru

Терапевтические средства на основе слитых с кристаллизуемым фрагментом иммуноглобулина G1 белков представляют собой перспективный класс терапевтических средств. К таким белкам, к примеру, относятся этанерцепт, включающий два естественных растворимых рецептора фактора некроза опухоли человека (используется в лечении ревматоидного артрита); абатацепт, включающий внеклеточный домен человеческого гликопротеина цитотоксических Т-лимфоцитов 4 (используется в лечении ревматоидного артрита), афлиберцепт, включающий фрагменты внеклеточных доменов человеческих рецепторов с фактором роста эндотелия сосудов 1 и 2 типов (используется в лечении возрастной макулярной дегенерации).

В ходе данной работы были разработаны генетические конструкции, несущие синтетические последовательности кДНК этанерцепта, абатацепта и афлиберцепта в составе компактизованных плазмид на основе нетранслируемых частей гена EEF1A1 китайского хомячка [1]. Была произведена трансфекция культуры клеток яичника китайского хомячка CHO (*Chinese Hamster Ovary*) 4BGD (ауксотрофных по тимидину и глутамину) [2]. Стабильные линии клеток-продуцентов получали путем использования метотрексата в качестве селекционного агента. Генетическую амплификацию проводили увеличением количества метотрексата в культуральной среде. Концентрации целевых белков были исследованы при помощи иммуноферментного анализа, в качестве калибратора было использовано моноклональное антитело инфликсимаб. Для абатацепта в ходе первого раунда селекции (200 нмоль метотрексата) была получена продуктивность 9,6 пг/клетку, после второго (2000 нмоль метотрексата) 8,5 пг/клетку, после третьего (8000 нмоль метотрексата) 11,4 пг/клетку. Для этанерцепта в ходе первого раунда селекции (50 нмоль метотрексата) была получена продуктивность 2,8 пг/клетку, после второго (500 нмоль метотрексата) 26,8 пг/клетку. Для афлиберцепта в ходе первого раунда селекции (50 нмоль метотрексата) была получена продуктивность 15,7 пг/клетку, после второго (500 нмоль метотрексата) 17,2 пг/клетку. Для афлиберцепта была измерена настоящая удельная продуктивность, она составила 15 мкг/млн клеток/день и не изменилась после увеличения метотрексата.

Литература:

1. Sinegubova MV, Orlova NA, Vorobiev II. 2023. Promoter from Chinese hamster elongation factor-1 α gene and Epstein-Barr virus terminal repeats concatemer fragment maintain stable high-level expression of recombinant proteins. PeerJ 11:e16287
2. Orlova, N. A., Dayanova, L. K., Gayamova, E. A., Sinegubova, M. V., Kovnir, S. V., and Vorobiev, I. I. (2022) Targeted knockout of the dhfr, glul, bak1, and bax genes by the multiplex genome editing in CHO cells, Dokl Biochem Biophys, 502, 40-44, doi: 10.1134/S1607672922010082.

8.18. БИОСОВМЕСТИМЫЕ СТРУКТУРЫ НАПРАВЛЕННОГО ДЕЙСТВИЯ КАК СРЕДСТВА ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ АГРЕССИВНЫХ МЕТАСТАЗИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕЙ

Шипунова В.О.^{1,2,3}

¹Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Институт биофизики будущего, Москва

²Научно-технологический университет "Сириус", Сочи

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

viktoriya.shipunova@phystech.edu

Комплексная противораковая терапия и разработка методов высокочувствительной онкодиагностики являются, вероятно, одними из самых обширных направлений исследований в современной биомедицине. Фармацевтический рынок противоопухолевых препаратов в России оценивается сотнями миллиардов рублей. При этом даже при наличии и активном применении в клинике инновационных адресных соединений, моноклональных антител и иммунотоксиканов на их основе, смертность от онкозаболеваний по-прежнему находится на лидирующих позициях. Значительные надежды возлагаются на использование наноструктур в качестве переносчиков лекарств для онкотерапии. Однако детальное изучение механизмов доставки наноформуляций, в том числе адресных - направленных на определенные рецепторы клеток, и их эффективности привело к значительному скепсису многих исследователей и серьезным заявлениям о том, что адресная доставка нанопрепаратов эффективна только для быстроразвивающихся опухолей лабораторных грызунов, но не для медленно растущих опухолей человека.

Представленный в докладе цикл работ направлен на разработку и тестирование методов диагностики и терапии онкозаболеваний, нацеленных на максимальную эффективность и снижение побочных эффектов стандартных методов терапии. Исследования посвящены разработке и внедрению адресных соединений, в том числе, адресных наноформуляций, а также методов их введения в организм для достижения казавшейся ранее призрачной концепции "магической пули" - идеального агента для диагностики и терапии, приходящего точно в цель без побочных эффектов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ № 22-73-10141 (*in vitro* исследования) и Минобрнауки России, № 075-03-2023-106, проект FSMG-2023-0015 (*in vivo* исследования).

СЕКЦИЯ 9

БИМЕДИЦИНСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

9.1. СИНТЕЗ ПЛАЗМОННЫХ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА ДЛЯ ТЕРАНОСТИКИ: ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ И ПОТЕНЦИАЛЬНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

Антонова А.О.¹, Колесникова О.А.¹, Иванцова П.М.², Шипунова В.О.¹

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

²Научно-технологический университет "Сириус", Сочи
antonova.ao@phystech.edu

По статистическим данным ВОЗ, каждая шестая смерть в 2020 году была вызвана онкологическим заболеванием. Прогнозируется, что количество случаев заболевания раком увеличится до 20 миллионов ежегодно к 2025. В настоящее время уже существует и развивается много методов лечения и диагностики опухолей. Однако ряд проблем, возникающих при применении уже существующих подходов, побуждает учёных искать новые варианты воздействия на раковые клетки.

Наноплазмоника - это область исследований, которая открывает множество возможностей для практических применений. Наночастицы благородных металлов, в т.ч. серебра, обладают уникальными оптическими свойствами, которые могут оказать большое влияние на область биомедицины. Из всех форм серебряных наночастиц выделяют нанопризмы из-за их сильной полосы поверхностного плазмонного резонанса в ближней инфракрасной области, что наделяет их большим потенциалом для применения в фототермической терапии.

В данной работе были синтезированы плазмонные треугольные серебряные нанопризмы. Путём изучения кинетики деградации частиц в различных средах, был подобран наиболее эффективно стабилизирующий их полиэтиленгликоль. Полученные агрегаты были охарактеризованы различными биофизическими методами, было исследовано их взаимодействие с клетками-мишенями. В ходе цитометрического исследования было установлено, что взаимодействие модифицированных белком нанопризм с клетками *in vitro* происходит селективно. Показано, что метод синтеза с облучением натриевой лампой, применённый в данной работе, и использованный способ покрытия позволяет получать стабильные наночастицы предсказуемой формы, сохраняющие свои свойства продолжительное время. Таким образом, данное исследование демонстрирует возможность применения серебряных нанопризм в качестве агентов адресной доставки к опухолевым клеткам.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России, соглашение 075-10-2021-093, проект NMB-RND-2120 (получение наноагентов и *in vitro* тесты) и соглашение № 075-15-2019-1672 (исследование физико-химических характеристик наноагентов).

9.2. БЕЛКИ ПЛАЗМЫ КОСТИСТЫХ РЫБ (TELEOSTEI) КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПРОТЕОМОВ ПЛАЗМЫ ЧЕЛОВЕКА

Базарова З.М.¹, Павлова П.А.², Торопыгин И.Ю.³, Андреева А.М.¹

¹Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина, Ярославская обл., п. Борок

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

³Институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, Москва
zinaidabazarova1999@gmail.com

Использование Teleostei как моделей для изучения патологий человека (атеросклероз, диабет, диснатремии и др.) основывается на представлениях о консервативной организации протеомов плазмы всех позвоночных. Между тем, 3-я полногеномная дупликация, не нарушив консервативного принципа, внесла свои коррективы в состав протеомов плазмы Teleostei рыб, значительная часть которых утратила доминирующий в плазме Mammalia сывороточный альбумин, что подтверждается данными полногеномного секвенирования для >> десятка видов Teleostei. В качестве моделей для изучения патологий человека широко используют рыбку данио *Danio rerio*, карпа *Cyprinus carpio* и других "безальбуминовых" рыб. Цель работы - идентификация белков низкомолекулярной фракции (НМФ) сыворотки крови "безальбуминового" вида атлантической трески *Gadus morhua* и функциональное аннотирование белков в терминах GeneOntology (GO). Белки разделяли в диск-, 2D-градиенте 5-40% PAGE и 2D-SDS-PAGE. Для идентификации белков использовали MALDI-TOF MS и MS/MS. Для аннотирования функций белков использовали анализ GO с помощью пакета topGO (v2.46.0, Alexa & Rahnenfuhrer, 2021). В ходе работы было идентифицировано 27 белков, среди которых по относительному содержанию доминируют аполипопротеины (в составе липопротеинов высокой плотности), гемопексины и ингибиторы протеиназ, чьи функции связаны с транспортом и иммунной защитой; другие белки участвуют в кроветворении и регуляции обменных процессов. Почти все белки трески (кроме stonustoxin subunit beta-like) представлены и в плазме человека (Anderson et al., 2004), но не в составе ее НМФ, которая содержит сывороточный альбумин (и минорный транстретин). Результаты работы указывают на перекрывание составов протеомов трески и человека, но в составе разных фракций (у человека в составе глобулиновых фракций). По этой причине выявленные особенности НМФ трески не противоречат принципу консервативной организации протеомов плазмы Vertebrata, но могут использоваться в качестве моделей для изучения анальбуминемий у человека, и, возможно, должны учитываться в случаях, требующих тестирования патологий по наличию альбумина.

Работа выполнена в рамках госзадания № 121050500046-8.

9.3. ДОДЕЦИЛ-СОДЕРЖАЩИЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ И ИХ АССОЦИАТЫ С СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ

Бавэр И.А.^{1,2}, Жарков Т.Д.¹, Купрюшкин М.С.¹, Дмитриенко Е.В.^{1,2}

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск

²Новосибирский национальный исследовательский государственный
университет, Новосибирск
i.bauer@g.nsu.ru

Последние достижения в области генетики и химии нуклеиновых кислот позволили создать принципиально новые терапевтические препараты, избирательно воздействующие на причину заболевания. Однако, несмотря на достигнутые успехи, остаются нерешенными проблемы улучшения фармакокинетических свойств терапевтических олигонуклеотидов при сохранении их биологической активности. Одним из перспективных подходов является синтез олигонуклеотидов, содержащих гидрофобные остатки для повышения эффективности проникновения таких производных в клетки и улучшения их фармакокинетических свойств. Понимание механизмов взаимодействия с сывороточным альбумином, самым распространенным белком плазмы крови, может обеспечить новые возможности и свойства для терапевтических олигонуклеотидов амфифильной природы, такие как повышенная стабильность, снижение иммунного ответа и контролируемое биораспределение.

Данная работа посвящена изучению особенностей самосборки и нековалентных взаимодействий с сывороточным альбумином человека новых производных олигонуклеотидов. Установлено, что введение триазириламидофосфатной модификации, содержащей две додецильные группы, на 3'-конце олигонуклеотидной последовательности, незначительно влияет на ее сродство к комплементарной последовательности. Исследуемые амфифильные олигонуклеотиды способны самособираются в мицеллоподобные ассоциаты размером 8-15 нм. Олигонуклеотиды с додецильными группами образуют устойчивые комплексы с сывороточным альбумином человека с константой диссоциации порядка 10^{-6} М. При этом мицеллоподобные структуры олигонуклеотидов разрушаются при связывании с белком. С помощью проточной цитофлуориметрии показана эффективность накопления дуплексных структур, одна из цепей которых содержит замещенный додецильными группами триазириламидофосфат, на линиях эукариотических клеток.

Подводя итог, в настоящей работе представлено изучение особенностей самосборки, формирования нековалентных ассоциатов с сывороточным альбумином человека, а также проникновения в клетки новых амфифильных производных олигонуклеотидов. Полученные данные свидетельствуют о перспективности их использования для биомедицинских разработок.

9.4. КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК У ПАЦИЕНТОВ С СИСТЕМНЫМ СКЛЕРОЗОМ

Богатырева А.И., Кириченко Т.В., Маркина Ю.В., Толстик Т.В., Хованцева У.С., Чердниченко В.Р., Маркин А.М.

ГНЦ РФ "Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского", Москва
nastyia.bogatyreva.96@mail.ru

Системный склероз (СС) - это аутоиммунное ревматическое заболевание соединительной ткани, поражающее кожу и внутренние органы. Этиология данного заболевания остается до конца неизвестной. Вероятно, совокупность внутренних (генетических) и внешних факторов приводит к развитию СС. В последних исследованиях большинства соматических заболеваний митохондриальную дисфункцию рассматривают как важный механизм патогенеза, так как митохондрии способны модулировать реакции врожденного иммунитета. Повреждение митохондрий может привести к гибели клетки, а итоговое высвобождение митохондриальной ДНК (мтДНК) способствовать усилению системного воспаления за счет активации иммунных клеток, что, в свою очередь, является одним из ключевых звеньев патогенеза СС. В настоящем исследовании проведена оценка количества митохондрий в CD14⁺ моноцитах пациентов с СС и здоровых лиц. Данный параметр был выражен через измерение копийности мтДНК.

В исследование были включены 25 пациентов с СС и 16 условно здоровых лиц без признаков СС в анамнезе. Для оценки количества митохондрий была использована ДНК, полученная из CD14⁺ моноцитов, выделенных из цельной крови участников исследования. Получение CD14⁺ моноцитов осуществляли с использованием стандартной методики выделения лейкоцитарной фракции в градиенте фиколла с последующей селекцией клеток на магнитных колонках (Miltenyi Biotec, США) с помощью наночастиц (Miltenyi Biotec, США). Выделение ДНК осуществляли набором ExtractDNA Blood & Cells kit (Евроген, Россия), абсолютное число копий мтДНК измеряли с помощью цифровой ПЦР.

Количество копий мтДНК в CD14⁺ моноцитах было статистически значимо выше у пациентов с СС по сравнению с группой сравнения. Предположительно, увеличение числа копий мтДНК в CD14⁺ моноцитах может быть следствием компенсаторного механизма, который необходим для воспаления сниженной функции дефектных митохондрий в моноцитах пациентов с СС. При этом поврежденные митохондрии могут вызывать гибель клетки, после чего высвобождение мтДНК способствует повышению системного воспаления за счет активации иммунных клеток.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (НИОКТР № 123030700026-8).

9.5. КОНЬЮГАТЫ ТЕТРАПИРРОЛОВ С НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМ ИНГИБИТОРОМ ТИРОЗИНКИНАЗЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ ДЛЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ФДТ

Бортневская Ю.С.¹, Захаров Н.С.¹, Ширяев Н.А.¹, Никольская Е.Д.², Карпеченко Н.Ю.³, Брагина Н.А.¹, Жданова К.А.¹

¹МИРЭА - Российский технологический университет, Москва

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

³Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н.

Блохина, Москва

Bortnevskaia2000@yandex.ru

Фотодинамическая терапия (ФДТ) - многообещающий подход к лечению широкого спектра раковых заболеваний, а также неоплазий различных типов и локализаций. Неинвазивный характер ФДТ и отсутствие общего токсического действия являются ключевыми преимуществами данного метода по сравнению с традиционными подходами. На сегодняшний день вектор развития ФДТ тесно связан с разработкой высокоэффективных фотосенсибилизаторов и оптимизацией средств их селективной доставки к опухолевым тканям. Наличие в препарате лигандов, способных адресно доставлять фотодинамический агент к раковым биомаркерам, позволяет существенно повысить эффективность лечения онкологических заболеваний методом ФДТ. Рецепторы эпидермального фактора роста (EGFRs), служащие ключевыми медиаторами в пролиферации, ангиогенезе и метастатическом распространении, - наиболее перспективные мишени для активного нацеливания.

Данная работа посвящена синтезу и исследованию цитотоксического действия катионных и незаряженных конъюгатов *мезо*-арилпорфиринов с нацеливающим лигандом - эрлотинибом, который расположен либо вблизи макроцикла, либо отделен от него алифатическими спейсерами из 5 и 10 метиленовых звеньев, а также соединение сравнения, не содержащее в своей структуре эрлотиниб. Получение целевых соединений осуществляли путем медь-катализируемого азид-алкинового циклоприсоединения, а также в условиях модифицированной реакции Шоттена-Баумана.

В ходе исследования биологической активности целевых соединений на первом этапе была изучена их способность к накоплению в клетках. Количественный анализ флуоресценции показал высокую интенсивность флуоресценции конъюгатов после 24 ч инкубации, что свидетельствует об их накоплении на поверхности клеточной мембраны и вовлечением активных путей эндоцитоза. Изучение темновой и светоиндуцированной цитотоксичности соединений, инкапсулированных в мицеллы Pluronic F-127, указывает на максимальную токсичность конъюгатов в отношении клеточных линий, характеризующихся высоким уровнем экспрессии EGFR: MDA-MB-231 и A431.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант №22-73-10176).

9.6. СИНТЕЗ БИОРАЗЛАГАЕМЫХ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИМОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ И ГЛИКОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ МЕТОДОМ ПРЯМОЙ ПОЛИКОНДЕНСАЦИИ В РАСПЛАВЕ

Жадаев В.И.^{1,2}, Завалко Ф.А.^{1,2}, Коваленко В.Л.^{1,2}, Светлакова А.В.^{1,2}, Никитин М.П.^{1,2}, Шипунова В.О.^{1,2}

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

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
zhadaev.vi@phystech.edu

Полимер PLGA (полилактид-гликолид) является одним из самых используемых полимеров в научных исследованиях. Его значимость обусловлена рядом преимуществ, которые он предоставляет в различных областях исследований. В биомедицинской области PLGA используется для создания различных биоразлагаемых материалов, таких как микросферы, наночастицы и гидрогели. Эти материалы могут быть использованы для контролируемой доставки лекарственных препаратов, вакцин и генетического материала. PLGA обладает уникальными свойствами, такими как биосовместимость и биоразлагаемость. Это позволяет улучшить эффективность лекарственной терапии и снизить побочные эффекты. PLGA также находит применение в области нанотехнологий, где он используется для создания наночастиц.

Данная работа нацелена на синтез полимерных PLGA наночастиц, обсуждаются оптимальные условия синтеза путем поликонденсации в расплаве непосредственно из L-молочной кислоты и гликолевой кислоты с молярным соотношением исходных компонентов 50/50. При одинаковых условиях синтеза с использованием L-LA и D,L-LA в качестве исходных материалов, был получен серийный PLGA с различными молярными соотношениями, включая 90/10, 65/35, 80/20 и 50/50. Были получены адресные полимерные и магнитно-полимерные наночастицы. Планируется провести исследование влияния соотношения компонентов полилактида (LA) и гликолида (GA) на возможность включения в матрицу полимера различных веществ: водорастворимых или водонерастворимых соединений, фотодинамических и фототермических красителей, а также химиотерапевтических препаратов и магнетитов для адресной доставки. Планируется изучить эффективность включения этих веществ в состав наночастиц и их дальнейшее использование, как агентов для адресной химиотерапии.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ № 22-73-10141 (синтез полимеров, *in vitro* исследования) и Минобрнауки России, соглашение 075-03-2023-106, проект FSMG-2023-0015 (характеристика полимеров и агентов на их основе).

9.7. РАЗРАБОТКА СТРАТЕГИЙ СИНТЕЗА И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ КОНЬЮГАТОВ КАТИОННЫХ МЕЗО-АРИЛПОРФИРИНОВ С НАЦЕЛИВАЮЩИМ ЛИГАНДОМ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ АГЕНТОВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Захаров Н.С.¹, Бортневская Ю.С.¹, Ширяев Н.А.¹, Градова М.А.², Карпеченко Н.Ю.³, Брагина Н.А.¹, Жданова К.А.¹

¹МИРЭА - Российский технологический университет, Москва

²Институт химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, Москва

³Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н.

Блохина, Москва

nikita_zakharov_0_0@mail.ru

Онкологические заболевания остаются одной из главных проблем современной медицины. Одним из новых и безопасных методов лечения злокачественных новообразований является фотодинамическая терапия (ФДТ). Данный подход основан на возбуждении соединения-агента - фотосенсибилизатора (ФС) - светом соответствующей длины волны, с последующим поражением опухолевых клеток путем формирования активных форм кислорода. Наиболее перспективным на данный момент является третье поколение ФС, сочетающее в себе фотодинамическое действие и селективное накопление в патологических тканях с высоким уровнем экспрессии рецепторов эпидермального фактора роста (EGFRs).

В ходе данной работы был изучен и разработан подход к синтезу катионных мезо-арилпорфиринов, содержащих в своей структуре низкомолекулярный ингибитор тирозинкиназы (ТКИ) рецептора эпидермального фактора роста - Эрлотиниб (Tarceva®, OSI Pharmaceuticals) в качестве нацеливающего лиганда. Целевое соединение было получено путем 1,3-биполярного медь-катализируемого азид-алкинового циклоприсоединения ранее синтезированного по стандартной методике цинкового комплекса азидопорфирина с коммерчески доступным Эрлотинибом®.

В процессе исследования физико-химических свойств целевого соединения и соединения сравнения, не содержащего в своей структуре нацеливающий лиганд, были сопоставлены их спектрально-люминесцентные параметры, а также фотостабильность в среде различных полимеров и поверхностно-активных веществ. Полученные данные указывают на максимально эффективную стабилизацию мономолекулярной формы обоих соединений в мицеллах Cremophor и Pluronic.

В результате проведения МТТ-анализа была определена темновая и светоиндуцированная цитотоксичность целевых соединений, инкапсулированных в мицеллы Pluronic F-127, на клеточных линиях, характеризуется гиперэкспрессией EGFR и низким уровнем экспрессии EGFR. После облучения максимальная токсичность наблюдается для двух клеточных линий, характеризующихся наибольшим уровнем экспрессии EGFR: MDA-MB-231 и A431.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант №22-73-10176).

9.8. ВЫБОР МЕТОДА ОЦЕНКИ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА У ПАЦИЕНТОВ С НЕИНФЕКЦИОННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Злобовская О.А., Дементьева Е.В., Курносов А.С., Лукашина М.В., Глазунова Е.В., Шипулин Г.А.

"Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью" Федерального медико-биологического агентства, Москва

OZlobovskaya@cspfmmba.ru

Введение. К настоящему времени накоплена большая база знаний о корреляции состава микробиоты с состоянием здоровья человека. Для изучения микробиоты используют разные технологии - от посевов на среды до полногеномного секвенирования. Одним из наиболее распространенных методов для изучения разнообразия и состава микроорганизмов в организме человека является секвенирование фрагмента гена 16S рРНК, а одним из самых точных методов количественной оценки индивидуальных таксонов - количественная ПЦР в реальном времени (кПЦР-РВ).

Цель и задачи. Целью данного исследования была комплексная оценка микробиоты кишечника пациентов с различными заболеваниями тремя различными методиками: культуральной (посевы на селективные среды), 16S NGS (регион V3-V4) и кПЦР-РВ (11-30 таксонов). Было проведено сопоставление результатов оценки и поиск возможных причин в случае расхождений вердиктов.

Основные результаты. Для пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями (три группы: атеросклероз, хроническая сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса и хроническая сердечная недостаточность с низкой фракцией выброса) и пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени была проведена оценка микробиоты по сравнению с контрольными группами, тремя методами. В зависимости от применяемой методики выявленные маркеры различались. Соответственно, было проведено прямое сопоставление результатов молекулярно-генетических методов и определены ключевые этапы, которые могут приводить к наблюдаемым различиям.

Интересно, что для некоторых заболеваний были найдены и общие маркеры для всех трёх методик: в частности, статистически значимое увеличение представителей семейства Lactobacillaceae у больных атеросклерозом и снижение представителей рода Collinsella у больных неалкогольной жировой болезнью печени по сравнению с пациентами контрольных групп.

Выводы. Для первичного изучения особенностей микробиоты при заболеваниях необходимо использовать комплексный подход, поскольку каждая методика в отдельности обладает ограничениями. Далее для количественной оценки рекомендуется использовать кПЦР-РВ.

9.9. DR5 - ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ МИШЕНЬ ДЛЯ СЕНОЛИТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ГЛИОБЛАСТОМЫ

Исакова А.А.^{1,2}, Мазур Д.В.¹, Антипова Н.В.¹, Гаспарян М.Э.¹, Яголович А.В.^{1,2}

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

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва
alina.labbio@gmail.com

Сенесцентные клетки представляют собой препятствие для противоопухолевой терапии из-за их способности секретировать факторы воспаления и пролиферации, создавая микросреду, способствующую прогрессированию опухолевого процесса и устойчивости к лечению. Рецептор DR5 (TRAILR2, TNFRSF10B), член семейства рецепторов смерти, привлекает внимание как потенциальная мишень для терапии опухолей, поскольку экспрессируется на поверхности большинства трансформированных клеток. Ранее было показано, что агонисты DR5 успешно устраняют сенесцентные клетки, демонстрируя сенолитическую активность в клетках солидных опухолей различного происхождения. Однако до сих пор отсутствуют данные о сенолитической активности агонистов DR5 в глиобластоме.

Известно, что темозоломид способен индуцировать сенесцентное состояние в клетках глиобластомы. В данной работе клеточные линии глиобластомы U-87MG и T98G, а также первичные клеточные линии глиобластомы человека были обработаны темозоломидом и агонистом DR5 - DR5-специфичным вариантом цитокина TRAIL DR5-B. Изучалась одновременная совместная инкубация препаратов и последовательная, с предварительной инкубацией с темозоломидом в течение 120 часов. Сенесцентное состояние клеток было показано несколькими методиками, включая окрашивание на β -галактозидазу, подсчет темпа удвоения клеток и проточную цитометрию. Выживаемость клеток оценивали колориметрическим методом WST-1. Было показано, что при предварительной инкубации с темозоломидом клетки линии U-87 приобретали все исследуемые признаки сенесцентности. Также было отмечено повышение уровня экспрессии DR5 на поверхности клеток под воздействием темозоломида. Клетки линии T98G не отвечали на предобработку темозоломидом. Лиганд DR5-B на 40% эффективнее индуцировал гибель клеток U-87, достигших сенесцентного состояния после предобработки темозоломидом (до 75% гибели) по сравнению с клетками после одновременной совместной инкубации лиганда с темозоломидом. Клетки линии T98G были исходно чувствительны к агонисту DR5 (до 80% клеточной гибели), при это сенсibiliзирующий эффект темозоломида не наблюдался. Ответ первичных линий глиобластомы на DR5-B после предобработки темозоломидом был гетерогенным. Наши результаты подтверждают, что рецептор DR5 имеет перспективы в качестве потенциальной мишени для сенолитической терапии глиобластомы.

Работа поддержана грантом РФФ # 24-24-00222 (<https://rscf.ru/project/24-24-00222/>).

9.10. ТЕСТИРОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ И ТОКСИЧНОСТИ АКТИВНЫХ КАНДИДАТОВ КОМБИНАТОРНОЙ БИБЛИОТЕКИ PG1 НА МОДЕЛИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ *C. elegans*

Калганова А.И.¹, Пипия С.О.¹, Елисеев И.Е.¹, Смирнов И.В.^{1,2}, Терехов С.С.¹

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

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

kalganovanas@ibch.ru

Кризис антибиотикорезистентности во многом связан с проблемой поиска и разработки новых противомикробных препаратов. В настоящее время существует лишь ограниченное разнообразие технологических платформ для высокоэффективного скрининга новых противомикробных препаратов. Использование модельных организмов *C. elegans* для моделирования бактериальных инфекций внутри луночного планшета представляет собой новый подход, позволяющий изучать взаимодействие организм-возбудитель и идентифицировать молекулы с новыми механизмами действия, в том числе с учетом активации врожденного иммунитета. В этой работе мы оцениваем возможности системы *C. elegans* для скрининга лекарств *in vivo*. В ходе исследования отобранные ранее активные соединения комбинаторной библиотеки антимикробного пептида протегрина-1 (PG1) были протестированы с точки зрения эффективности и токсичности лечения бактериальной инфекции. Модель летальной бактериальной инфекции внутри кишечника *C. elegans* была создана с использованием штамма *P. aeruginosa* Ps1. Возможность формирования такого рода инфекции была показана ранее с помощью внедрения GFP-репортера в плазмиду указанной бактерии и фиксирования наличия колонизации кишечника нематоды с помощью конфокального микроскопа. Заражение нематод производилось посредством питания нематод с чашек Петри, засеянных патогеном. Затем нематод переносили в луночный планшет, в лунки которого было добавлено активное вещество. Дальнейшие оценка и подсчет особей по типу живой/мертвый производились с помощью микроскопа через определенные промежутки времени. На основе подсчета мертвых и живых особей были построены кривые Каплана-Майера, основанные на непараметрическом анализе выживаемости. Полученные результаты показывают перспективность использования модели бактериальной инфекции в *C. elegans* в качестве доступного способа оценки токсичности и эффективности потенциальных кандидатов новых антимикробных препаратов *in vivo*.

Исследование выполнено при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2021-1049.

9.11. СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ *XRCC1*, *ERCC2*, *TP53*, *MDM2* И *CDKN1A* С РИСКОМ РАЗВИТИЯ РАКА ЯИЧНИКА

Капралова М.А.¹, Ломскова П.К.¹, Хохлова С.В.², Хабас Г.Н.², Асатурова А.В.², Каюмова Л.Н.³, Заварыкина Т.М.^{1,2}

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

²Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова, Москва

³Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва

kapamariya97@gmail.com

Рак яичника (РЯ) является второй причиной смертности среди онкогинекологических заболеваний в мире. Современная теория канцерогенеза основывается на том, что помимо внешних факторов, для возникновения опухоли важно наличие генетической предрасположенности. Известно, что патогенез РЯ в ряде случаев, чаще всего при наследственном варианте заболевания, тесно связан с мутациями генов-онкосупрессоров *BRCA1* и *BRCA2*. Однако мутации в этих генах отвечают за 10-15% случаев РЯ.

В работе получено распределение частот аллелей полиморфных участков генов системы репарации *XRCC1* (rs25487) и *ERCC2* (rs13181), апоптоза и контроля клеточного цикла *TP53* (rs1042522), *MDM2* (rs2279744) и *CDKN1A* (rs1801270) и проанализирована их связь с риском развития РЯ у женщин Московского региона. Материалом исследования служила ДНК, выделенная из крови 129 здоровых доноров и крови и ткани 107 больных РЯ. Определение статуса полиморфных маркеров генов проводилось методом ПЦР в реальном времени с флуоресцентными аллель-специфичными зондами.

В ходе работы получены отношения шансов (ОШ) риска развития РЯ: для аллеля *Arg* маркера гена *XRCC1* ОШ = 2.24, 95% ДИ = 1.57-3.20, $p < 0.0001$, для генотипа *Arg/Arg* ОШ = 3.52, 95% ДИ = 1.66-7.45, $p = 0.0001$ (рецессивная модель). Для маркера гена rs13181 *ERCC2* различия были выявлены для генотипов в образцах ткани: ОШ = 0.48, 95% ДИ = 0.29-1.75, $p = 0.0042$ для *Lys/Gln* (кодминантная модель), и ОШ = 2.43, 95% ДИ = 0.67-2.85, $p = 0.016$ для *Gln/Gln* (рецессивная модель). Для аллеля Pro маркера rs1042522 гена *TP53* ОШ = 0.94, 95% ДИ = 0.57-1.65, $p = 1.0$; для аллеля G маркера rs2279744 гена *MDM2* ОШ = 0.96, 95% ДИ = 0.49-1.89, $p = 0.90$; для аллеля *Arg* маркера rs1801270 гена *CDKN1A* ОШ = 1.53, 95% ДИ = 0.76-3.09, $p = 0.29$.

Таким образом, выявлено, что rs25487 *XRCC1* и rs13181 *ERCC2* связаны с повышенным риском развития РЯ и могут быть вовлечены в патогенез этого заболевания. Для маркеров генов *TP53*, *MDM2* и *CDKN1A* получены результаты, указывающие на отсутствие ассоциации с РЯ. Выявлено, что носительство минорных аллелей rs1042522 *TP53*, rs2279744 *MDM2* и rs1801270 *CDKN1A* не влияет на риск развития РЯ у женщин Московского региона.

9.12. СПЕЦИФИКА ПОЛНОТРАНСКРИПТОМНОГО ПРОФИЛЯ МИОКАРДА ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЁЛОЙ ФОРМОЙ ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ В СРАВНЕНИИ С НЕГИПЕРТРОФИЧЕСКИМИ ПАТОЛОГИЯМИ СЕРДЦА

Класс А.Л.¹, Власов И.Н.¹, Шадрина М.И.¹, Сломинский П.А.¹, Лысенко А.В.², Салагаев Г.И.², Филатова Е.В.¹

¹Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт", Москва

²Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва

AnnaK.img@yandex.ru

Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) представляет собой наиболее распространенную генетически-обусловленную патологию миокарда и характеризуется выраженной гипертрофией преимущественно левого желудочка. Клиническая картина при ГКМП отличается обширным диапазоном симптоматики: от легкой одышки и головокружений до прогрессирующей сердечной недостаточности (СН). К сожалению, на данный момент молекулярно-генетические механизмы развития ГКМП изучены не до конца, вследствие чего затруднена разработка лекарственной терапии. Одним из подходов в изучении молекулярного патогенеза ГКМП является анализ транскриптома патологического миокарда. В связи с этим, целью данной работы было выявить особенности полнотранскриптомного профиля миокарда у пациентов с тяжелой формой ГКМП по сравнению с таковым у пациентов с другими кардиологическими патологиями.

Выборка включала образцы миокарда от 24 пациентов с тяжелой формой ГКМП. Секвенирование транскриптома осуществляли на базе платформы HiSeq 2500 (Illumina, США). Также в обработку были включены данные РНК-секвенирования образцов донорских сердец, а также пациентов с ГКМП и другими кардиологическими патологиями (дилатационная кардиомиопатия (ДКМП), аритмогенная кардиомиопатия (АКМП) и миокардит), загруженные из публичной базы GEO (Gene Expression Omnibus) (GSE89714; GSE160997; GSE180313; GSE135055; GSE107125; GSE107311; GSE120567). Дизайн анализа объединенных данных включал следующие этапы: кластеризация данных на основании корреляции экспрессии, выявление дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) в полученных кластерах и анализ обогащения списков ДЭГ с использованием базы Gene Ontology. В результате анализа обогащения ДЭГ значимые пути были выявлены в трех кластерах ко-регулирующихся ДЭГ, связанные в числе прочего с внутриклеточной организацией, регуляцией клеточных процессов, регуляцией транскрипции, организацией внеклеточного матрикса, регуляцией апоптоза и т.д. Полученные данные позволили выявить патологические молекулярные механизмы, более специфичные для ГКМП, что в перспективе может способствовать поиску новых мишеней в стратегии разработки лекарственной терапии.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт» и частичной финансовой поддержке РФФИ (Соглашение No 22-15-00243).

9.13. ТАРГОСОМЫ: ПОЛИМЕРНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ АДРЕСНОЙ ФОТО/ХИМИОТЕРАПИИ И ДИАГНОСТИКИ HER2-ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Комедчикова Е.Н.^{1,2}, Колесникова О.А.^{1,2}, Никитин М.П.^{1,2}, Деев С.М.², Шитунова В.О.^{1,2}

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

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
elena.komedchikova@gmail.com

Терапия онкологических заболеваний по-прежнему остаётся одной из самых главных проблем современной биомедицины, что вызвано множеством факторов, таких как развитие устойчивости раковых клеток к химиопрепаратам, неспецифичность химиотерапии, серьезные побочные эффекты и рядом других. Сочетание химиотерапии и фототермической терапии (в особенности с использованием одного агента, например, многофункциональных наночастиц) является одним из перспективных методов лечения, благодаря синергичному действию двух различных путей уничтожения раковых клеток. В данной работе были получены и охарактеризованы полимерные наночастицы, загруженные терапевтическим соединением иринотеканом, фотосенсибилизатором фталоцианином, флуоресцентной меткой нильским голубым и модифицированные моноклональным антителом трастузумаб, для адресной комбинированной фото/химиотерапии и диагностики раковых клеток, сверхэкспрессирующих рецептор HER2. Полученные наночастицы, названные нами "таргосомы", продемонстрировали специфичное связывания с HER2-сверхэкспрессирующими раковыми клетками. Также была продемонстрирована HER2-избирательная цитотоксичность таргосом *in vitro*: IC₅₀ в 18 раз больше для HER2-негативных клеток по сравнению с HER2-позитивными, а также показано усиление цитотоксичности более чем в 20 раз при облучении клеток лазером с длиной волны 808 нм. Тесты по биовизуализации *in vivo* показали эффективное накопление таргосом в HER2+ опухоли и метастазах. Комбинированная фото/химиотерапия на мышах с HER2+ опухолями продемонстрировала практически полное ингибирование роста опухоли: индекс ингибирования роста опухоли составил 93%, таким образом подтверждая эффективность разработанных многофункциональных наноструктур для тераностики.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России, проект № МК-4451.2022.1.4 (соглашение 075-15-2022-542).

9.14. РАЗРАБОТКА ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ МАСШТАБИРУЕМОГО СИНТЕЗА БЕЛКОВЫХ НАНОЧАСТИЦ

Коренков Е.С.¹, Никитин М.П.^{1,2}

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

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
korenkov.es@phystech.edu

Наночастицы широко применяются в области биомедицины, например, для терапии, диагностики, биовизуализации. Среди них, белковые наночастицы привлекают особое внимание из-за своей биосовместимости, биоразлагаемости и малой токсичности. На настоящий момент, существуют клинически одобренные формуляции на основе белковых наночастиц, такие как альбумин связанный Паклитаксел (Абраксан).

Существует множество методов синтеза белковых наночастиц. Среди них, нашей группой был ранее разработан метод быстрой термической формации (БТФ). Было показано, что сильный, но быстрый нагрев раствора белка приводит к образованию наночастиц контролируемого размера, оказывая минимальное воздействие на функцию и структуру белка. Однако, для многих из известных методов синтеза, масштабирование является существенной проблемой, т.к. при больших объемах партии, оптимальные параметры синтеза могут сильно отличаться от подобранных ранее для малых объемов.

В рамках данной работы был использован иной подход для синтеза белковых и/или покрытых белком наночастиц. С помощью данного подхода был синтезирован ряд наночастиц из модельных белков. Также показана возможность *in situ* инкапсуляции результирующих наночастиц различными терапевтическими молекулами, например, противоопухолевыми. Показана лучшая масштабируемость синтеза по сравнению с аналогичным не проточным методом, доказана возможность проведения синтеза при любых объемах партии, от 100 мкл до любого практически значимого количества, с сохранением физико-химических параметров результирующих наночастиц (а именно, размера и эффективности инкапсуляции). Также указана возможность регуляции упомянутых характеристик только с помощью вариации прибор-ассоциированных параметров, таких как скорость потока и температура нагрева.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования, соглашение 075-03-2023-106 от 13.01.2023, проект FSMG-2022-0016 (синтез наноагентов) и соглашение 075-15-2019-1672 от 31.10.2019 (характеристика наноагентов и приборная часть).

9.15. ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ХИТОЗАНА И СУКЦИНИЛ ХИТОЗАНА ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ПРИЕМЕ ОЛАНЗАПИНА

Костенко В.В.^{1,2}, Свирицевская Е.В.¹, Шагдарова Б.Ц.³

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

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

³ФИЦ Биотехнология РАН, Москва
shagdarova.bal@gmail.com

Оланзапин является атипичным антипсихотическим препаратом (ААП), применяемым для лечения шизофрении и биполярного расстройства. Длительное применение ААП часто приводит к развитию метаболических расстройств (МР), в частности ожирения. Показано, что прием противодиабетического препарата метформина (МФ) снижает риск развития МР. Целью данной работы являлось сравнение эффективности хитозана (ХТ) и сукцинил хитозана (СХТ) с МФ в профилактическом действии в модели перорального приема оланзапина (ОЛА) мышами.

Мышей С57BL/6 ежедневно кормили перловой кашей с арахисовым маслом (5 г+0,04 мл/мышь) только или в смеси с ОЛА (6 мг/кг); ОЛА+ХТ, ОЛА+СХТ (200 мг/кг), ОЛА+МФ (100 мг/кг) в течение 7 недель. Оценивали массу тела мышей, а с 3-ей по 7-ю неделю эксперимента выделяли РНК из гипоталамуса мышей и анализировали экспрессию генов, ассоциированных с ожирением.

Показали, что в модели приема ОЛА на мышах наблюдается не повышение, а снижение массы тела, при этом все три препарата компенсировали снижение веса. Различий между профилактическими препаратами не было. Снижение веса мышей в группе ОЛА означает, по-видимому, токсический эффект ОЛА. Прием ОЛА в течение 7 недель не приводил к ожирению мышей. При изучении экспрессии в гипоталамусе мышей генов определили, что из 10 генов, ассоциированных с ожирением, у мышей из группы ОЛА достоверно снижалась экспрессия двух генов проопиомеланокортина (РОМС) и пептида, регулируемого кокаином и амфетамином (CART). Оба гена участвуют в контроле аппетита. Профилактические препараты повышали экспрессию РОМС в ряду СХТ>ХТ>МФ и экспрессию CART в ряду СХТ>МФ>ХТ, что соответствует результатам по весу мышей. Таким образом, в мышинной модели 7-недельного перорального приема, ОЛА снижает аппетит за счет снижения экспрессии РОМС, CART и, возможно других генов. Профилактические препараты МФ, ХТ и СХТ компенсировали токсическое действие ОЛА. Из них максимальный эффект оказывал СХТ.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-10070, <https://rscf.ru/project/23-24-10070/>.

9.16. ЭКСПРЕССИЯ HSP70 НА ПОВЕРХНОСТИ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ИХ КУЛЬТИВИРОВАНИИ В ПРИСУТСТВИИ ИЛИ В ОТСУТСТВИИ КОНТАКТНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

**Костенко В.В.^{1,2}, Бойко А.А.¹, Гречихина М.В.¹, Макарова А.О.^{1,2},
Овсянникова О.А.¹, Свищевская Е.В.¹, Сапожников А.М.¹**

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

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва
89168752290@mail.ru

Белки теплового шока (БТШ) являются внутриклеточными шаперонами, участвующими в процессах фолдинга и рефолдинга различных белков внутри клетки. В норме транслокации БТШ на поверхность клетки нет. При раке на поверхности некоторых опухолевых клеток появляются БТШ, что может являться маркером опухоли и мишенью для терапевтических препаратов. Целью данной работы являлся анализ экспрессии БТШ70 на поверхности опухолевых клеток различного происхождения, культивируемых на предметных стеклах в среде RPMI-1650 с фетальной сывороткой и в объеме на среде ГибриС-1-СНО без сыворотки. В среде Гибрис клетки росли в объеме, формируя мелкие сфероиды. Анализ экспрессии БТШ70 проводили в адгезивном состоянии методом конфокальной микроскопии и методом проточной цитометрии клеток, культивируемых на среде Гибрис (без контактного взаимодействия). Показали, что ни одна из 11 адгезивных раковых клеток не экспрессирует на поверхности БТШ70 при культивировании в монослое. В среде Гибрис клетки рака легких A549, шейки матки HeLa, поджелудочной железы Pan02, меланомы B16, колоректального рака SW620 и лимфом U937, EL-4, Raji, Daudi не экспрессировали БТШ70. От 50 до 100% клеток рака молочных желез линий SkBr-3, SCOV, BT474, MCF7, HCC1395, колоректального рака SW837 и клетки нейробластом T97g и A2780 начинали экспрессировать БТШ70 на поверхности. Экспрессия была гетерогенной, что проявлялось в 2-3 пиках по уровню экспрессии БТШ70. Мы предполагаем, что экспрессия БТШ70 на поверхности ряда клеточных линий является результатом стресса. Выявленный феномен можно использовать для предупреждения метастазирования как после резекции опухоли, так и для профилактики неоперабельного рака, для чего антитело к БТШ70 следует конъюгировать с противоопухолевым препаратом, что требует дальнейшего исследования.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-15-00472).

9.17. КОМБИНИРОВАННАЯ НАНОРАЗМЕРНАЯ СИСТЕМА ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ НА ОСНОВЕ АМФИФИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПОЛИ-N- ВИНИЛПИРРОЛИДОНА

Куковьякина Е.В.¹, Куликов П.П.¹, Гаспарян М.Э.², Кусков А.Н.¹, Яголович А.В.²

¹Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
kev0700@yandex.ru

Полимерные наноносители являются одной из наиболее перспективных систем доставки лекарственных веществ в организме. В работе были получены комбинированные полимерные наночастицы на основе амфифильных производных поли-N-винилпирролидона (Амф-ПВП) с инкапсулированным противоопухолевым протеасомным ингибитором бортезомибом (Velcade™) в гидрофобном ядре и ковалентно конъюгированные с рецептор-специфичным вариантом цитокина TRAIL DR5-B на поверхности. Благодаря селективному связыванию с рецептором смерти DR5, DR5-B является удобным молекулярным инструментом для опухолеспецифичной адресной доставки, и в то же время обладает высокой противоопухолевой активностью в отношении DR5-позитивных солидных опухолей. Инкапсуляция бортезомиба в полимерные наночастицы обеспечивает снижение побочных эффектов, пролонгированное действие и синергичный противоопухолевый эффект с DR5-специфичным лигандом.

Наночастицы с инкапсулированным бортезомибом на основе Амф-ПВП, содержащего концевую гидрофобную стеариловую группу, были получены эмульсионным методом с последующей модификацией малеимидом на гидрофильном конце полимерной цепи. Ковалентная конъюгация наночастиц с DR5-специфичным лигандом проводилась путем клик-химии по аминокислотному остатку цистеина на N-конце полипептидной цепи DR5-B.

Цитотоксическая активность комбинированных полимерных наночастиц была исследована *in vitro* на 2D и 3D моделях на основе опухолевых клеточных линий глиобластомы человека U87 и T98G, а также на нормальных фибробластах. Была показана повышенная цитотоксическая активность комбинированной наносистемы в сравнении со свободным DR5-специфичным лигандом наряду с отсутствием токсичности для нормальных клеток.

Таким образом, показано, что наночастицы с бортезомибом в гидрофобном ядре и DR5-направленным лигандом на поверхности способны одновременно доставлять биологически активные молекулы, обладающие противоположными физико-химическими свойствами и синергичным терапевтическим эффектом, что делает их перспективным кандидатом для комбинированной терапии солидных опухолей.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ №23-15-00468.

9.18. АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *DLG4* И *HNMT* В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА И В ГРУППАХ СРАВНЕНИЯ

Лукашевич М.В.¹, Семенова Е.И.¹, Руденок М.М.¹, Карабанов А.В.², Иллариошкин С.Н.², Шадрина М.И.¹, Алиева А.Х.¹

¹Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт", Москва

²Научный центр неврологии, Москва

farouki@mail.ru

Болезнь Паркинсона (БП) - хроническое нейродегенеративное заболевание, проявляющееся в виде экстрапирамидных нарушений. По распространённости БП занимает второе место среди нейродегенеративных заболеваний и встречается у 2-3% людей в возрасте более 65 лет. Хотя БП в первую очередь затрагивает нигростриатные нейроны и дофаминергическую систему, она также влияет на другие нейромедиаторные системы. Это проявляется в так называемых немоторных симптомах (НМС): нарушения сна, вегетативной нервной системы, психические и когнитивные нарушения. НМС, наблюдаемые и до проявления двигательных симптомов, связаны с изменениями в работе других нейромедиаторных систем, таких как холинергическая, серотонинергическая, ГАМК-ергическая, и гистаминергическая и др. На сегодняшний день очевидно, что БП является клинически гетерогенным заболеванием, в патогенез которого вовлечены различные механизмы и факторы, в том числе и молекулярно-генетические. Несмотря на то, что БП изучается уже довольно долгое время, пока еще не выявлены все процессы, которые связаны с этим заболеванием, в частности, какие механизмы и факторы способствуют развитию нейродегенерации при БП. Одним из перспективных направлений исследования начала развития нейродегенерации БП является изучение гистаминергической нейромедиаторной системы, так как она участвует в регуляции процессов сна и бодрствования и о её возможной связи с БП свидетельствуют данные многих исследований. Одним из подходов служит изучение изменений экспрессии генов в периферической крови. Установлено, что в клетках крови обнаруживаются белки, характерные для дофаминергических нейронов, такие как тирозингидроксилаза и рецепторы дофамина типа D1 и D2. Этот подход может быть полезным для поиска биомаркеров и диагностики БП.

В данной работе был проведён анализ изменения экспрессии генов *DLG4* и *HNMT* в периферической крови пациентов с БП и в группах сравнения с помощью ПЦР в реальном времени с использованием TaqMan - зондов. В результате было выявлено статистически значимое увеличение экспрессии гена *HNMT* в периферической крови пациентов с БП, получавших и не получавших противопаркинсоническую терапию. Полученные результаты могут подтверждать предположение об усилении компенсаторных механизмов в гистаминергической системе при БП. Данный ген может рассматриваться в качестве потенциального биомаркера ранних стадий БП.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт» и частичной финансовой поддержке РФФ (Соглашение № 20-15-00262).

9.19. ВЛИЯНИЕ НИТРОЗИЛЬНЫХ ЖЕЛЕЗО-СЕРНЫХ КОМПЛЕКСОВ НА АКТИВНОСТЬ ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ, РАСТВОРИМОЙ ГУАНИЛАТЦИКЛАЗЫ И АДЕНИЛАТЦИКЛАЗЫ

Мазина Л.М.¹, Новикова В.О.¹, Покидова О.В.¹, Конюхова А.С.^{1,2},
Татьяненко Л.В.¹, Санина Н.А.^{1,2,3}

¹Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии РАН, Черноголовка

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

³Московский государственный областной университет, Научно-образовательный центр "Медицинская химия", Мытищи
lmzina@icp.ac.ru

Монооксид азота (NO) играет важную роль в регуляции физиологических процессов, в особенности протекающих в сердечно-сосудистой системе. Нарушение его выработки приводит к ускоренному тромбообразованию, формированию атеросклеротических бляшек, увеличению артериального давления. Одним из подходов к терапии является использование NO-доноров. Одними из прямых мишеней NO-зависимого сигналинга являются растворимая гуанилатциклаза (рГЦ) и аденилатциклаза (АЦ). Их активация приводит к синтезу вторичных мессенджеров: циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) и циклического аденозинмонофосфата (цАМФ). Повышение концентрации цГМФ обуславливает вазодилатационный эффект. Изменения уровня концентрации цАМФ влияет на сердечный ритм, сопротивление сосудов и сократительную способность. Концентрацию циклических нуклеотидов регулирует фосфодиэстераза (ФДЭ).

Были исследованы два перспективных NO-донора, не требующие дополнительной активации для генерации NO: биядерные нитрозильные комплексы железа с 3,4-дихлортиофенолилами состава $[\text{Fe}_2(\text{SC}_6\text{H}_3\text{Cl}_2)_2(\text{NO})_4]$ (комплекс 1) и с тиосульфатными лигандами $\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (комплекс 2). Цель работы - изучить их влияние на три ферментативные системы: рГЦ, АЦ и ФДЭ. NO-донорная активность, оценённая по кинетике накопления нитритов с помощью реакции Грисса, выше у комплекса 2. После инкубации растворов комплексов (в концентрациях 10^{-4}М , 10^{-5}М и 10^{-6}М) с гомогенатами сердца мышей оценили уровень цАМФ и цГМФ с помощью ИФА. Комплекс 1 (10^{-4}М) вызвал повышение уровня цАМФ в 2.4 раза и цГМФ - в 4.5 раз. Комплекс 2 приводил к уменьшению уровня цАМФ, а цГМФ увеличивался в 3.2 раза. Комплекс 1 (10^{-4}М) ингибировал функции ФДЭ на 34.6%, комплекс 2 - полностью.

Исследование по влиянию комплекса 1 на концентрацию циклических нуклеотидов выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-73-10049, <https://rscf.ru/project/22-73-10049/>, комплекса 2 - по теме Государственного задания, № государственной регистрации АААА-А19-119071890015-6.

9.20. РАЗРАБОТКА ИОДСОДЕРЖАЩИХ ПРИРОДНЫХ ХЛОРИНОВ В КАЧЕСТВЕ ПРОТОТИПОВ РАДИОФАРМПРЕПАРАТОВ С РАДИОНУКЛИДАМИ ИОДА

Минаков Д.А.¹, Суворов Н.В.¹, Тихонов С.И.¹, Плотникова Е.А.^{1,2},
Плютинская А.Д.², Грин М.А.¹

¹РТУ МИРЭА, Институт тонких химических технологий им. М.В.

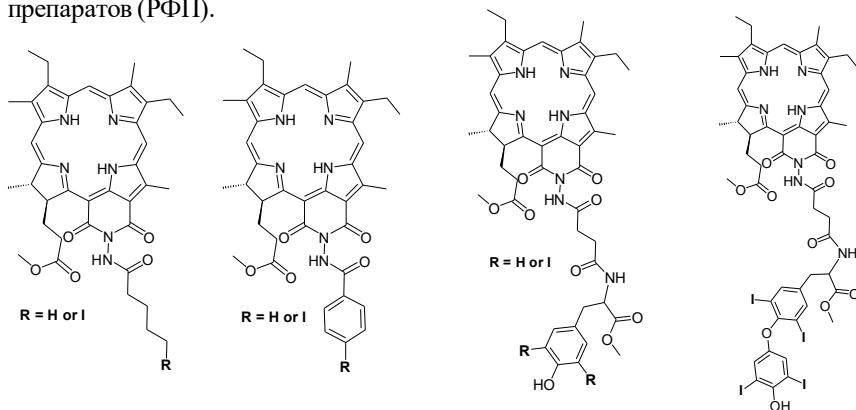
Ломоносова, Москва

²Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А.

Герцена - филиал ФГБУ НМИЦ радиологии Минздрава России, Москва

d-m2020@yandex.ru

В настоящее время для радионуклидной терапии, а также визуализации опухолей методами ПЭТ и ОФЭКТ широкое распространение получили изотопы иода ¹²³I, ¹²⁵I, ¹³¹I, однако существует проблема их селективной доставки в опухолевые ткани. В работе реализовано введение холодного изотопа ¹²⁷I в структуру фотосенсибилизатора, способного селективно накапливаться в опухолях, включающее присоединение к природному хлорину иодсодержащих органических молекул, а также прямое иодирование производных пигмента. Ожидается, что после замены стабильного изотопа ¹²⁷I на радиоактивный изотоп методом радиоизотопного обмена, эти соединения смогут применяться в качестве радиофармацевтических препаратов (РФП).



Так как радиотрейсер не должен обладать темновой токсичностью, было проведено её измерение на культурах опухолевых клеток MCF-7 и HT-29. Было показано, что все полученные в настоящей работе конъюгаты обладают практически одинаковой темновой токсичностью и введение атомов иода в их структуру её не изменяет. Таким образом, соединение, содержащее 4 атома иода, является лидерным, обеспечивая большую концентрацию изотопа иода в опухоли при меньшей концентрации РФП.

Литература:

1. Development of Iodine-Containing Natural Chlorins as Prototypes of Radiopharmaceuticals with Iodine Radionuclides / D. A. Minakov, N. V. Suvorov, S. I. Tikhonov [et al.] // *Macrocyclics*. - 2023. - Vol. 16. - № 2. - P. 137-143.

9.21. СИНТЕЗ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ ТЕТРАПИРРОЛЬНОГО РЯДА И СОЗДАНИЕ МЕТАЛЛООРГАНИЧЕСКИХ КАРКАСОВ НА ИХ ОСНОВЕ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ФДТ

Петракова О.А.¹, Киторога О.О.¹, Крумкачева О.А.², Жданова К.А.¹, Брагина Н.А.¹

¹МИРЭА - Российский технологический университет, Москва

²Институт "Международный томографический центр" СО РАН,

Новосибирск

olga.petrakova.00@mail.ru

Фотодинамическая терапия (ФДТ) в настоящее время является перспективным методом лечения онкологических заболеваний. Данный метод основан на взаимодействии трех компонентов: фотосенсибилизатора (ФС), света и тканевого кислорода. При облучении светом соответствующей длины волны ФС генерирует активные формы кислорода (АФК) с использованием внутриклеточного O_2 , в частности, синглетного кислорода (1O_2). Токсическое действие данной формы приводит к гибели опухолевых клеток, сохраняя при этом окружающие нормальные ткани.

Эффективность ФДТ главным образом зависит от ФС, а также от надежных средств их направленной доставки. Металлоорганические каркасы (МОК) стали ФС четвертого поколения и демонстрируют выдающиеся результаты в доклинических исследованиях. МОК - это супрамолекулярные комплексы, состоящие из органических линкеров (ФС) и неорганических строительных единиц (ионы/кластеры металлов). МОК продемонстрировали повышенную эффективность генерации АФК, улучшенную растворимость гидрофобных ФС в биологических средах, отсутствие агрегации и самогашения, в отличие от предыдущих поколений ФС. Кроме того, было установлено, что МОК способны генерировать O_2 из эндогенного H_2O_2 , при гипоксии солидных опухолей, увеличивая эффективность лечения.

В рамках данной работы были получены ряды ФС для ФДТ на основе анионных мезо-арилпорфиринов типа A_2B_2 и A_4 , и соответствующие им синтетические хлорины и бактериохлорины. Далее были синтезированы МОК, содержащие ФС и каталитические количества комплекса $Fe(III)$ с тетракарбоксифенилпорфирином (ТСРР) для исследования каталитической активности. Было установлено, что добавление железосодержащего линкера уменьшало эффективность генерации 1O_2 , однако придавало им каталитическую активность в реакции разложения эндогенного H_2O_2 , присутствующего в опухолевых клетках. МОК на основе 5,10,15,20-тетракис(4-карбоксифенил)хлорина с 10% содержанием железа (III) продемонстрировали наилучшую эффективность встраивания линкера, оптимальный для ФДТ размер частиц (140-160 нм) и повышенную эффективность производства 1O_2 . Вместе с тем фотосенсибилизирующая активность в условиях гипоксии и нормоксии показала близкие значения, поэтому МОК на основе вышеупомянутого хлорина являются перспективными агентами для ФДТ.

9.22. ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВЫХ ГЕНОВ В КЛЕТКАХ МИОМЫ

Петросян Э.Г.¹, Мазур Д.В.¹, Кавиладзе М.Г.², Азадова Г.Я.², Антипова Н.В.¹

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

²Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва
ms.alu.alu@mail.ru

Актуальность. Клинико-морфологические особенности быстрорастущих миоматозных узлов, а также частое их сочетание с гиперпластическими процессами эндометрия, эндометриозом и функциональными кистозными изменениями яичников позволяют предположить, что в основе их развития лежат нарушения, вызываемые половыми стероидами, реализующиеся за счет пролиферации клеток с нарушением процессов апоптоза, что требует комплексного подхода, как в лечении, так и в восстановительном периоде.

Цели. Целью данной работы было изучение экспрессии различных генов на уровне мРНК, предположительно связанных с процессом онкогенеза.

Материалы и методы. Исследование состояло из 3-х групп пациенток: I группа, проходившая лечение в течение 3-х месяцев; II группа, проходившая лечение в течение 6-ти месяцев; группа-контроля. Первые два эксперимента были направлены на нахождение зависимости относительной экспрессии генов субъединиц никотиновых ацетилхолиновых рецепторов и длинных некодирующих РНК (CASC2, HOTAIR, linc-ROR и MALAT1) в клетках миомы от длительности лечения препаратом "Индинол + эпигаллат" с помощью методики ПЦР в реальном времени. Третий эксперимент был направлен на нахождение корреляции между экспрессией генов рибосомальных белков паралога RPL22 и RPL22L1 в клетках миомы и продолжительностью лечения тем же препаратом с помощью методики классической ПЦР с электрофорезом в агарозном геле.

Результаты. Наибольшие значения относительной экспрессии субъединиц $\alpha 3$ и $\beta 1$ зафиксированы в группе контроля, а для субъединиц $\alpha 4$, $\alpha 6$, $\alpha 7$ и $\alpha 9$, наоборот, эти показатели максимальны в клетках миомы в I группе. Наибольшее значение относительной экспрессии субъединицы $\alpha 9$ замечено в образцах миомы во II группе. Наиболее вероятными кандидатами на роль маркеров миомы могли бы быть $\alpha 4$, $\alpha 6$, $\alpha 7$, так как их экспрессия достаточно ярко выражена, и максимальное значение принадлежит одной из крайних групп.

Выводы. Исходя из полученных данных можно сделать предположение о том, что длинные некодирующие РНК на роль маркеров подходят куда больше, чем субъединицы никотиновых ацетилхолиновых рецепторов. Также мы можем сделать вывод о том, что в клетках миомы экспрессируются оба паралога, причем у белка RPL22L1 модулируются две изоформы.

9.23. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНЕРАЦИИ ВТОРЫХ ГАРМОНИК ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ТРЕХМЕРНЫХ ИЗОБРАЖЕНИЙ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ И СОСУДОВ

Портнов С.А.^{1,2}, Шалыпин С.С.^{1,2}, Богородский А.О.³, Шевченко М.А.¹

¹Институт 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

Нелинейный оптический процесс - генерацию вторых гармоник (ГВГ) широко используют при получении изображений органов и тканей при помощи мультифотонной микроскопии. Основным преимуществом такого подхода является то, что ГВГ способны генерировать структуры с анизотропными свойствами, что не требует дополнительного окрашивания препаратов.

Целью данного исследования была оценка возможности использования ГВГ для визуализации дыхательных путей и сосудов в легких.

Был проведен анализ набора трехмерных изображений оптически просветленных легких мышей, предварительно окрашенных при помощи стрептавидина, конъюгированного с флуорофором AlexaFluor488. Изображения были получены при помощи мультифотонного конфокального лазерного сканирующего микроскопа Zeiss LSM780 с использованием лазера 1030 нм и единого 34-канального детектора. Спектральное разделение было проведено с использованием спектров AlexaFluor488 и ГВГ при помощи программного обеспечения ZEN. Для построения поверхностей дыхательных путей и сосудов использовали программное обеспечение Imaris.

На основе изображения в канале ГВГ была построена поверхность полых разветвлённых трубок. Известно, что в тканях различных органов ГВГ генерируют белковые молекулы, такие как коллаген, составляющий основу стенок сосудов и дыхательных путей. И действительно, построенная на основе изображения в канале AlexaFluor488 поверхность воздухоходов частично совпадала с поверхностью, построенной на основе изображения в канале ГВГ.

Анализ полученных результатов позволил сделать заключение о том, что используя стрептавидин в комбинации с ГВГ возможно получить отдельные изображения структур дыхательных путей и сосудов легких.

9.24. АРТЕМИЗИНИН СТИМУЛИРУЕТ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ НЕЙРОНАЛЬНЫХ КЛЕТОК *IN VITRO*

Пукаева Н.Е.^{1,2}, Пухов С.А.¹, Семаков А.В.¹, Иванова Т.В.², Лыткина О.А.¹, Овчинников Р.К.^{1,2}, Кухарский М.С.^{1,2}

¹ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН, Институт физиологически активных веществ, Черноголовка

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва
nadya.pukaeva@mail.ru

Разработка безопасных и эффективных методов лечения нейродегенеративных заболеваний (НДЗ) является приоритетной задачей медицинской науки. Одним из перспективных направлений является поиск низкомолекулярных соединений, повышающих выживаемость нервных клеток. Недавно открытые нейропротекторные свойства артемизинина позволяют предположить, что это соединение можно использовать в качестве основы для разработки препаратов с нейропротекторной активностью. Артемизинин, как небольшая липофильная молекула проникает через гематоэнцефалический барьер и достигает высокой концентрации в ЦНС. Целью данного исследования была оценка влияния артемизинина на жизнеспособность перевиваемых и первичных нейрональных культур. На культуре клеток нейробластомы SH-SY5Y был проведен MTS-тест после 48 часов инкубации с артемизинином в микромолярном диапазоне концентраций. При концентрации 1 мкМ значительно повышалась жизнеспособность клеток SH-SY5Y по сравнению с контролем. При этом при концентрациях выше 50 мкМ жизнеспособность снижалась. Рассчитанная IC₅₀ составила 180 мкМ. Чтобы определить специфичность наблюдаемого эффекта, мы также оценили влияние артемизинина на клетки эпителиального происхождения линии НЕК-293. В данном случае также наблюдалось повышение жизнеспособности клеток НЕК-293 при концентрации артемизинина 1 мкМ, однако оно происходило через 24 часа инкубации. Такие различия могут быть объяснены скоростью деления клеток разного типа. Эксперименты на первичных гиппокампальных культурах мышей показали, что артемизинин в концентрации 1 мкМ увеличивает число нейронов, а также разветвленность сети отростков. Таким образом, артемизинин в концентрации 1 мкМ обладает стимулирующим эффектом на опухолевых линиях клеток и способен повышать выживаемость первичных нейронов в культуре.

9.25. ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ, ДЛИННЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК И РИБОСОМАЛЬНЫХ ГЕНОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СТЕПЕНЯХ ДИСПЛАЗИИ ШЕЙКИ МАТКИ

Режекина А.И.¹, Мазур Д.В.¹, Леваков С.А.², Громова Т.А.², Джафарова М.М.², Мушкюрова Д.Р.², Антипова Н.В.¹

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

²Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва
anastasiar03@gmail.com

Рак шейки матки является четвертым наиболее часто диагностируемым злокачественным новообразованием и четвертой наиболее частой причиной смерти от рака у женщин в 2020 году. Основной причиной его развития считается инфицирование вирусом папилломы человека, который может привести к развитию диспластических изменений эпителия шейки матки и, в последующем, к раку шейки матки. Методы стратегий скрининга, своевременной вакцинации, устранения потенциальных факторов риска, а также ранняя диагностика с выявлением наиболее потенциальных маркеров аномалий эпителия и предраковых состояний наряду со своевременным лечением могли бы способствовать снижению распространенности данного заболевания.

Цель. Провести поиск корреляции между стадиями развития диспластических изменений шейки матки и экспрессией генов на уровне мРНК (матричной РНК) никотиновых ацетилхолиновых рецепторов (нАХР) (субъединиц $\alpha 2$ -10, $\alpha 1$ -4, γ , δ , ϵ), нескольких длинных некодирующих РНК (днРНК) (MALAT1, HOTAIR, CASC2 и linc-ROR) и рибосомальных белков RPL22 и RPL22L1.

Материалы и методы. Исследование проводилось на образцах ткани эпителия шейки матки, взятых у следующих групп пациентов: группа 1 с установленной лёгкой степенью дисплазии шейки матки, группа 2 с установленной первой степенью дисплазии, но проходившая лечение препаратом "Цервикон-ДИМ", группа 3 с установленной умеренной степенью дисплазии и группа 4 с установленной тяжёлой степенью дисплазии. В работе для определения экспрессии генов нАХР и днРНК были использованы следующие методы: ПЦР real-time и синтез цепей ДНК на матрице РНК (обратная транскрипция). Оценка экспрессии генов RPL22 и RPL22L1 на уровне мРНК проводилась при помощи ПЦР с дальнейшим электрофорезом.

Результаты исследования. При обработке данных ПЦР real-time было обнаружено усиление экспрессии мРНК $\alpha 6$ субъединицы нАХР с развитием дисплазии шейки матки, в то время как экспрессия днРНК MALAT1 была высокой только на начальной стадии заболевания. Также показано, что экспрессия RPL22 высока на начальных стадиях заболевания, а применение препарата "Цервикон-ДИМ" среди данной группы пациенток приводило к её снижению. Оцениваемая экспрессия на уровне мРНК прочих субъединиц нАХР, а также днРНК HOTAIR, CASC2 и linc-ROR была минимальной.

Выводы. Полученные данные по экспрессии мРНК $\alpha 6$ субъединицы nAXP и днРНК MALAT1 представляются релевантными для дальнейших изучений механизмов развития заболевания, а также их потенциального использования как маркеров. Экспрессия генов RPL22 и RPL22L1 на уровне мРНК является интересным объектом для дальнейшего исследования и использования в определении протекания заболевания. А оценка уровней экспрессии прочих субъединиц nAXP, а также днРНК HOTAIR, CASC2 и linc-ROR представляет собой определенные затруднения при их использовании для выявления заболевания.

9.26. АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *Sema5a*, *Robo1*, *Vegfa* И *Mef2c* В ТКАНЯХ МОЗГА МЫШЕЙ С ХРОНИЧЕСКОЙ МОДЕЛЬЮ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Руденок М.М., Семенова Е.И., Лукашевич М.В., Шульская М.В., Партевян С.А., Рыболовлев И.Н., Шадрина М.И., Сломинский П.А., Алиева А.Х.

Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт", Москва
rudenokmmi.img@yandex.ru

Болезнь Паркинсона (БП) - это распространённое, прогрессирующее, хроническое, нейродегенеративное заболевание. Патогенез БП характеризуется длительным бессимптомным периодом развития и медленным неуклонно прогрессирующим течением заболевания. Так, может пройти около двадцати лет с момента запуска нейродегенеративных процессов до появления первых классических двигательных симптомов БП. Первые моторные признаки (брадикинезия, ригидность, тремор покоя, постуральная неустойчивость и застывание), на основе которых ставится диагноз БП, появляются при гибели 50-60% дофаминергических (ДА-ергических) нейронов в чёрной субстанции и снижении уровня дофамина (ДА) в стриатуме на 70-80%.

В настоящее время существует большое количество работ, посвященных изучению роли изменения транскриптома в патогенезе БП, а также проведены метаанализы полученных данных. Однако несмотря на достижения в изучении патогенеза данного заболевания механизмы, запускающие патологические процессы и связанные с ранними этапами нейродегенерации до сих пор мало изучены. В основном, это связано с невозможностью изучения эндогенных процессов, происходящих в мозге пациентов с БП на ранних стадиях заболевания.

Одним из решений данной проблемы является изучение изменения экспрессии генов на различных моделях БП и, прежде всего, воспроизводящих ранние этапы развития нейродегенеративных процессов. С этой целью активно используются модели БП, основанные на введении различных нейротоксинов. Широко используемым и одним из самых специфичных является МФТП.

В нашей лаборатории ведутся активные работы по разработке и анализу хронических моделей, которые основаны на введении МФТП и пробеницида. Эта модель предполагает долговременное развитие нейродегенеративного процесса, которая более адекватно отражает длительный процесс развития патологического процесса, как у пациентов с БП.

В данной работе был проведен анализ экспрессии генов *Sema5a*, *Robo1*, *Vegfa* и *Mef2c* в мозге мышей с изучаемой хронической моделью БП на нескольких временных точках. Полученные результаты позволяют расширить представление о механизмах, связанных с ранними этапами нейродегенерации при БП.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт» (ГЗ - 5Ф - ИМГ.9) и частичной финансовой поддержке РНФ (Соглашение No 20-15-00262).

9.27. ГИБРИДНЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ИМПРИНТИРОВАННЫЕ ПОЛИМЕРЫ НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ

Седельникова А.Ю.^{1,2}, Дмитриенко Е.В.^{1,2}

¹Новосибирский государственный университет, Новосибирск

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

a.sedelnikova@g.nsu.ru

Актуальной задачей современных исследований является разработка эффективных систем для биомедицинских применений, включающих диагностику, терапию и доставку лекарственных препаратов. Специфичность и управляемость являются ключевыми критериями, выполнение которых особенно важно для таких конструкций. Создание гибридных материалов позволяет объединить преимущества составляющих компонентов в одной системе для достижения синергетического эффекта. Основываясь на перспективности использования комбинированного подхода, в данном исследовании представлен простой и удобный метод получения магнитных молекулярно-импринтированных полимерных наноматериалов для биомедицинских применений.

В ходе работы получен гибридный магнитный молекулярно-импринтированный полимер (ММИП) на основе биосовместимого нейлона-6 и наночастиц магнетита. Подобран оптимальный состав реакционной смеси для получения эффективных ММИП с магнитными свойствами, достаточными для управления системой под действием внешнего магнитного поля. С помощью различных методов определены морфологические и размерные характеристики композитных материалов, находящиеся в нанометровом диапазоне. При сравнении ММИП с неимпринтированным аналогом в качестве контроля продемонстрирована прекрасная адсорбционная способность импринтированного полимера, достигающая 110 мкмоль/г, средство с константой диссоциации порядка 10^{-7} М, а также значительно более высокая специфичность по отношению к молекулярному шаблону, в качестве которого использовался метиленовый синий, являющийся мощным фотосенсибилизатором. Селективность полученных ММИП доказана в сравнительных экспериментах по связыванию со структурными аналогами молекулы-шаблона. Возможность повторного использования нанокompозитного материала исследована при проведении нескольких циклов поглощения и высвобождения метиленового синего, в которых наблюдалась практически одинаковая адсорбционная способность. Продemonстрирована стабильность и высокая эффективность ММИП при взаимодействии с реальными образцами водных растворов в присутствии различных примесей.

Результаты данного исследования свидетельствуют о перспективности использования представленного подхода при создании различных биомедицинских систем благодаря подходящим физико-химическим свойствам полученных нанокompозитов.

9.28. ЭКСПРЕССИОННЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ *LRRN3*, *MEF2C*, *SLC22A4* И *P2RY12* В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С РАННИМИ СТАДИЯМИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Семенова Е.И.¹, Руденок М.М.¹, Лукашевич М.В.¹, Шульская М.В.¹, Карабанов А.В.², Федотова Е.Ю.², Иллариошкин С.Н.², Росинская А.В.³, Доронина О.Б.⁴, Шадрина М.И.¹, Сломинский П.А.¹, Алиева А.Х.¹

¹Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт", Москва

²Научный центр неврологии, Москва

³Приморская краевая клиническая больница №1, Владивосток

⁴Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Новосибирск
semyonovak@mail.ru

Болезнь Паркинсона (БП) - распространенное, прогрессирующее с возрастом нейродегенеративное заболевание, характеризующееся гибелью дофаминергических нейронов в компактной части черной субстанции. В среднем частота встречаемости БП составляет около 1% среди людей старше 60 лет и около 4% среди людей в возрасте 80 лет и старше. При этом отмечается, что в последние два десятилетия наблюдается стремительный рост числа пациентов с БП, а также снижение возраста начала заболевания.

В настоящее время показано, что развитие патологического процесса при БП может сопровождаться изменением экспрессии ряда генов как в черной субстанции и стриатуме, так и в других тканях. Опубликованные данные свидетельствуют о том, что клетки крови, в частности лимфоциты, могут быть моделью для изучения процессов, происходящих в головном мозге при БП. Целью настоящей работы было изучение изменений экспрессии генов *LRRN3*, *MEF2C*, *SLC22A4* и *P2RY12* на уровне мРНК в периферической крови пациентов с ранними стадиями БП.

В данной работе были исследованы 2 группы пациентов с БП (получавшие терапию и не получавшие терапию) и 2 группы сравнения (неврологический контроль и здоровые добровольцы). Анализ уровней мРНК исследуемых генов проводили с помощью обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени с зондами TaqMan.

В результате экспрессионного анализа было показано достоверное изменение экспрессии генов *LRRN3*, *MEF2C* и *SLC22A4*. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что данные гены могут быть вовлечены в патогенез ранних стадий БП.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ "Курчатовский институт" и частичной финансовой поддержке РФФ (Соглашение № 20-15-00262).

9.29. АДАПТИВНЫЕ СВОЙСТВА КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ

Mycoplasma hominis

Сикамов К.В.^{1,2}, Побегуз О.В.¹, Уразаева Д.Р.^{1,2}, Авшалумов А.С.^{1,2}, Михайлычева М.В.^{1,2}, Бабенко В.В.¹, Смирнов И.П.¹, Галямина М.А.¹, Горбачев А.Ю.¹

¹ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА, Москва

²Московский физико-технический институт (НИУ), Москва

sikamov2000@gmail.com

Введение. *Mycoplasma hominis* (*M. hominis*) из класса Молликут имеет редуцированный геном и не имеет клеточной стенки. Механизмы адаптации *M. hominis* и пути их регуляции плохо изучены. Изучение этих механизмов важно из-за онкогенного потенциала *M. hominis*.

Цель. Изучение адаптивных свойства *M. hominis*, связанных с выживанием в организме хозяина.

Задачи. Провести сравнительный протеогеномный анализ 8 клинических изолятов (КИ) *M. hominis* от пациентов с урогенитальными инфекциями и лабораторного штамма (ЛШ) Н-34.

Методы. КИ *M. hominis* любезно предоставлены А. Тараскиной, ЛШ Н-34 - К.Х. Лемке. Условия культивирования: сердечно-мозговой экстракт, лошадиная сыворотка (15%), дрожжевой экстракт (5%), L-аргинин (1%). Наблюдение колоний: световой микроскоп 40X, LETZLAR. Скорость роста определялась по количеству выделенной ДНК. Секвенирование: MGISEQ-2000 и PromethION. Сборка геномов: Unicycler; аннотация: Bakta, BLAST. Протеомный анализ: Orbitrap Q Exactive Plus. Количественное определение и идентификация белков: NextFlow конвейер QuantMS.

Результаты. (1) Сравнивая фенотипы и кривые роста КИ *M. hominis* с ЛШ Н-34, было обнаружено уменьшение интенсивности роста и размера колоний КИ. (2) Протеомный анализ показал снижение уровня экспрессии белков клеточного деления, репликации, трансляции и ключевых путей энергетического метаболизма, используемых ЛШ Н-34, что указывает на функциональную перестройку КИ в сторону состояния старвации, похожего на персистеров. Показано переключение энергетического метаболизма в сторону самого энергетически невыгодного пути утилизации рибонуклеозидов. (3) Также зафиксировано снижение экспрессии мембранных белков КИ в протеоме, что может быть стратегией для избегания иммунной системы хозяина. (4) Помимо этого, в протеоме КИ обнаружены уникальные, отсутствующие в Н-34, белки, такие как метилтрансфераза HsdM системы рестрикции-модификации (РМ) I типа, а в геномах КИ - дополнительные компоненты РМ систем. Это дает право предположить, что метилирование ДНК участвует в регуляции механизмов адаптации *M. hominis* в организме хозяина.

Выводы. Клинические изоляты *M. hominis* адаптируются к условиям стресса в организме хозяина, снижая клеточное деление, метаболизм и мембранные белки. Метилирование ДНК может играть ключевую роль в этой адаптации.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-00189, <https://rscf.ru/project/23-24-00189/>.

9.30. ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА КОПИЙ мтДНК У ПАЦИЕНТОВ С ОЖИРЕНИЕМ И ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Толстик Т.В., Маркина Ю.В., Кириченко Т.В., Богатырева А.И., Чередниченко В.Р., Маркин А.М.

Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского, Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына, Москва
taya0077@mail.ru

Широко известным является факт, что сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) сопровождают метаболические нарушения, в частности, ожирение. Связующим звеном данных патологий являются моноциты, играющие важную роль в реакциях врожденного иммунитета. Нарушение работы моноцитов в сторону провоспалительной активации может приводить к развитию заболеваний воспалительного генеза, таких как ожирение, а также некоторых ССЗ, в частности ишемической болезни сердца (ИБС). В настоящее время изменения функционального состояния моноцитов связывают с дисфункцией митохондрий, которая может проявляться в изменении количества мтДНК. Таким образом, целью настоящей работы было изучение содержания мтДНК в CD14⁺ моноцитах пациентов как важного диагностического маркера ожирения и сопутствующей ИБС.

В настоящее исследование были включены 57 пациентов в возрасте от 50 до 73 лет. Участники исследования были разделены на 3 группы: 1 - пациенты с ожирением (ИМТ>30 кг/м²) и сопутствующей ИБС; 2 - пациенты без ожирения, но с ИБС; 3 - пациенты с ожирением без ИБС 4 - пациенты без ожирения и ИБС. CD14⁺ моноциты были получены из цельной крови пациентов при помощи стандартной методики выделения лейкоцитарной фракции в градиенте фиколла с последующей магнитной сепарацией клеток на колонках (Miltenyi Biotec, США) с использованием наночастиц (Miltenyi Biotec, США). Выделение ДНК из CD 14⁺ моноцитов осуществляли набором ExtractDNA Blood & Cells kit (Евроген, Россия). Для оценки митохондриальной дисфункции проводили подсчет абсолютного количества копий мтДНК, измеренного с помощью цифровой ПЦР.

Количество копий мтДНК в CD 14⁺ моноцитах было статистически значимо выше у пациентов с ожирением и ИБС, а также у пациентов без ожирения, но с ИБС по сравнению с группой пациентов без ожирения и ИБС ($p<0,05$). Полученные данные могут свидетельствовать о том, что увеличение количества копий мтДНК у пациентов с ожирением и ИБС может являться компенсаторным механизмом митохондрий для поддержания оптимального уровня продукции АТФ при данных патологиях.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (НИОКТР № 123030700026-8).

9.31. СИНТЕЗ КОНЬЮГАТОВ ПОРФИРИНОВ С ИНГИБИТОРАМИ ГЕКСОКИНАЗЫ II

Усанёв А.Ю., Захаров Н.С., Жданова К.А., Брагина Н.А.

МИРЭА - Российский технологический университет, Москва

alexey0usaneyv@gmail.com

В последние десятилетия усилия исследователей направлены на разработку новых подходов к лечению онкологических заболеваний. Опухолевые клетки имеют целый ряд особенностей пролиферации и отличаются от нормальных клеток: неограниченный потенциал репликации и генетическая нестабильность, предотвращение апоптоза, отсутствие реакции на ингибиторы роста, ангиогенез, индукция хронического воспаления и изменение клеточного метаболизма. Особенно перспективной мишенью для противоопухолевой терапии представляется метаболизм глюкозы в опухолях, поскольку он сильно отличается от метаболизма глюкозы в здоровых тканях.

2-Дезокси-D-глюкоза и 3-бромпируват являются ингибиторами фермента гексокиназы II, который катализирует превращение глюкозы в глюкозо-6-фосфат. Таким образом они эффективно подавляют гликолиз и могли бы быть использованы для подавления роста опухоли. Для повышения эффективности терапии необходимо создавать препараты комбинированного действия.

Фотодинамическая терапия (ФДТ) - это малоинвазивный способ лечения онкологических заболеваний, при котором фотосенсибилизатор (ФС) и облучение светом с определенной длиной волны генерируют активные формы кислорода (АФК) для уничтожения раковых клеток. Для усиления противоопухолевого эффекта ФДТ и снижения воздействия на нормальные ткани очень важно повысить селективность накопления ФС в раковых клетках.

Данная работа направлена на получение новых фотосенсибилизаторов тетрапиррольного ряда с заряженными группами на периферии макроцикла, а также их конъюгатов с молекулами 2-дезоксид-глюкозы или 3-бромпирувата для достижения направленного действия ФДТ. В настоящее время проводятся моделирование химической структуры *in silico*, синтез соединений и физико-химические исследования.

Работа поддержана грантом РФФИ № 22-72-10176.

9.32. ИДЕНТИФИКАЦИЯ АНТИГЕНА ОПУХОЛЬСПЕЦИФИЧНОГО АНТИТЕЛА В3.4

Файзуллина Э.А., Серова О.В., Мокрушина Ю.А., Смирнов И.В., Терехов С.С., Габиров А.Г.

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
ivansmr@inbox.ru

Терапия злокачественных опухолей остается актуальной проблемой современной медицины. В настоящее время активно разрабатываются методы иммунотерапии опухолей. Растет число одобренных для иммунотерапии препаратов, многие разрабатываемые методы находятся на стадиях клинических и доклинических испытаний. Иммунотерапия включает в себя терапию с использованием моноклональных антител (антитела к HER2, CD20, EGFR), цитокинов (IL-2, INF- γ), клеточных технологий (противоопухолевые вакцины, генетические модифицированные дендритные клетки, Т-лимфоциты, НК-клетки). Одним из таких подходов является использование химерных Т-клеточных рецепторов, направленных к специфичным опухолевым антигенам. Это обеспечивает эффективную терапию, которая минимально воздействует на нормальные ткани в организме. Наибольшая эффективность этого метода показана при лечении гематологических злокачественных новообразований, таких как лимфома и лейкоз. В случае же солидных опухолей, возникают дополнительные трудности, например, при доставке CAR-T клеток в иммуносупрессивное микроокружение, обеспечении целевого и контролируемого их высвобождения. В то же время, основной задачей при создании иммунотерапевтического препарата, безусловно, остается выбор специфического опухолевого антигена и его эпитопов, а также выбор оптимальной структуры химерного рецептора. Целью данной работы является идентификация антигена к опухолевому специфичному антителу В3.4. В процессе исследования было высказано предположение о том, что антигеном к опухолевому специфичному антителу является мембранный белок интегрин, состоящий из двух субъединиц $\alpha 3$ и $\beta 1$, повышенная экспрессия которого встречается в клетках многих солидных опухолей. Нами было выявлено специфичное связывание антитела В3.4 с несколькими раковыми клеточными линиями, включая HCT116, MDA-MB-231. Для подтверждения специфичности антитела к $\alpha 3 \beta 1$ -интегрину с использованием метода CRISPR/Cas9 были получены клеточные линии HCT116 и MDA-MB-231, нокаутные по генам каждой из субъединиц (ITGA3 и ITGB1). Анализ методом проточной цитометрии показал отсутствие связывания антитела В3.4 с клетками, нокаутными как по гену ITGA3, так и ITGB1, что подтверждает специфичность антитела В3.4 к $\alpha 3 \beta 1$ -интегрину.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №23-44-00043.

9.33. РАЗРАБОТКА BRET-СИСТЕМЫ ДЛЯ ТАРГЕТНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ HER2⁺ ОПУХОЛЕЙ

Филимонова В.П., Прошкина Г.М., Шрамова Е.И., Деев С.М.

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

Фотодинамическая терапия (ФДТ) - перспективное направление лечения раковых опухолей. Ключевые компоненты данной системы - фотосенсибилизатор (ФС), молекулярный кислород и свет с определённой длиной волны для возбуждения фотосенсибилизатора. При переходе ФС в возбуждённое состояние происходит генерация активных форм кислорода (АФК), приводящих к гибели клетки.

Воздействие на опухоль при ФДТ селективно и локально из-за локального облучения опухоли и ограниченного радиуса распространения АФК, однако главным минусом является малая проникающая способность света в биологические ткани. Чтобы решить эту проблему, разрабатываются методы терапии с использованием внутреннего источника энергии, так называемые самоактивируемые системы ФДТ.

Данная работа посвящена разработке белковой пары для ФДТ, индуцируемой биолюминесцентным резонансным переносом энергии (BRET). В качестве ФС использовали фототоксичный флавопротеид SOPP3, возбуждаемый синим светом; в качестве источника энергии для его возбуждения использовали систему на основе люциферазы NanoLuc и ее высокоспецифичного субстрата фуримазина. Для селективной доставки белковой BRET-пары NanoLuc-SOPP3 к раковым клеткам использовали липосомы, модифицированные по внешней поверхности адресной молекулой DARPin₉₋₂₉, специфичной к онкомаркеру HER2 на поверхности раковых клеток.

В ходе работы нам удалось создать эффективную BRET пару (эффективность переноса энергии составила 1,12). Полученный препарат эффективно загружался в липосомы за счёт электростатических взаимодействий, размер протеолипосом составил 85.34 ± 0.81 нм. Было показано специфическое взаимодействие препарата с HER2⁺-клетками, с его последующей интернализацией и гибелью клеток; эффект на HER2⁻-клетках был незначительным. При исследованиях *in vivo* наблюдалось эффективное накопление препарата в опухоли, коэффициент ингибирования роста опухоли составил 78%.

9.34. КАНДИДОЗЫ И ВОЗМОЖНЫЕ ПРОТОТИПЫ НОВЫХ АНТИМИКОТИКОВ

Финкина Е.И., Овчинникова Т.В.

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

В последнее время микозы стали серьезной клинической проблемой. Поэтому, для привлечения внимания общественности и усиления глобальных ответных мер на распространение микозов, ВОЗ опубликовала перечень из наиболее опасных грибковых патогенов. *Candida auris* и *Candida albicans* являются грибковыми патогенами критического приоритета. В организме здорового человека грибы рода *Candida* присутствуют в составе микробиома кожи, кишечника, слизистой ротовой полости и влагалища. Однако, ослабление иммунитета приводит к развитию кандидозов, среди которых особую опасность представляют системные диссеминированные кандидозы и кандидемия, характеризующиеся высокой смертностью. В группе риска находятся пациенты, имеющие хронические заболевания легких, больные туберкулезом и сахарным диабетом, ВИЧ-инфицированные, онкобольные, недоношенные дети.

Широкая распространенность кандидозов обусловлена наличием у *Candida* sp. множества факторов вирулентности, таких как толстая клеточная стенка, секреция гидролитических ферментов, способность к быстрому переключению фенотипа, адгезии и формированию биопленок. Кишечный эпителий играет важную роль в защите организма от развития инвазивного кандидоза, поскольку именно через него наиболее часто происходит проникновение гриба в кровоток. Первым этапом защитного иммунного ответа эпителия является распознавание патогена посредством мембранных и внутриклеточных рецепторов, которое приводит к индукции синтеза антимикробных пептидов, таких как HBD-2, LL-37 и гистатин, а также провоспалительных интерлейкинов, рекрутирующих в очаг инфекции иммунные клетки. Однако, переход гриба в более патогенную гифовую форму приводит к подавлению защитного иммунного ответа и развитию системного кандидоза.

Список препаратов, применяемых при лечении поверхностных и инвазивных кандидозов, весьма ограничен. В основном используются препараты трех групп - полиены, азолы и эхинокандины. Ситуация обостряется распространением резистентных штаммов грибов. Поэтому существует острая потребность в разработке новых средств для лечения поверхностных и системных кандидозов, в том числе вызванных резистентными штаммами грибов. Прототипами таких средств могут стать антимикробные пептиды. На сегодняшний день известно множество антимикробных пептидов с противогрибковой активностью, которые выделены из бактерий, грибов, растений, животных и человека. Они различаются по структуре, спектру подавляемых патогенных грибов, мишени и механизму противогрибкового действия. Особый интерес представляют растительные дефенсины, обладающие выраженным противогрибковым действием, высокой устойчивостью, низкой токсичностью, а также иммуномодулирующими свойствами.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект № 24-25-00482).

9.35. ПОИСК ОПТИМАЛЬНЫХ СООТНОШЕНИЙ ВОРИНОСТАТА И ДОКСОРУБИЦИНА ДЛЯ ТЕРАПИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Хакимова Э.И., Моллаева М.Р., Яббаров Н.Г., Сокол М.Б., Чиркина М.В., Никольская Е.Д.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва
ha.emilia1@gmail.com

Цель. Оценка синергетического эффекта взаимодействия препаратов и поиск эффективного соотношения вориностата (SAHA) и доксорубицина (DOX) для лечения рака молочной железы с помощью математической модели Bliss. Применение комбинации SAHA и DOX представляет интерес за счет усиления фармакологических эффектов при их сочетании. Используя математическую модель Bliss, удалось подобрать эффективное соотношение между комбинацией SAHA и DOX.

Материалы и методы. Методом МТТ-теста определяли значения IC_{50} для SAHA и DOX в отношении линии клеток аденокарциномы молочной железы человека линии SKBR-3. Полученные значения IC_{50} (0.14 мкМ для DOX и 4.5 мкМ для SAHA) использовали как исходные для составления матрицы. Матрица состояла из 9 концентраций DOX (по вертикали, сверху вниз: 0.14, 0.07, 0.035, 0.0018, 0.0088, 0.0044, 0.0022, 0.0011, 0 мкМ) и 9 концентраций SAHA (по горизонтали, слева направо: 0, 0.035, 0.07, 0.14, 0.28, 0.56, 1.12, 2.25, 4.5 мкМ). По составленной матрице проводили МТТ-тест и определяли выживаемость клеток. Полученные значения выживаемости клеток вносили в программу SynergyFinder 2.0 и рассчитывали индекс синергизма для 64 исследуемых комбинаций по модели Bliss.

Результаты. Полученные результаты свидетельствовали об аддитивном эффекте комбинации SAHA и DOX в отношении клеток линии SKBR-3 (1.3 по Bliss, значение свидетельствовало об аддитивном эффекте). При анализе математической модели Bliss были выбраны концентрации 2,25-0.07 мкМ (по значению наибольшего индекса синергизма) и получено эффективное соотношение SAHA:DOX - 32:1. Выявлено, что значения IC_{50} для DOX и SAHA в комбинации ниже, чем при добавлении веществ по отдельности, что свидетельствует об эффективности полученного соотношения.

Выводы. Математическая модель Bliss позволила выявить аддитивный эффект комбинации SAHA/DOX, а также определить оптимальное соотношение SAHA/DOX в отношении линии клеток SKBR-3.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-00293, <https://rscf.ru/project/22-25-00293/>.

9.36. ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ АЛЛОГЕННОГО МИНЕРАЛЬНОГО КОСТНОГО КОМПОНЕНТА ПРИ ВНУТРИМЫШЕЧНОМ ВВЕДЕНИИ ЖИВОТНЫМ

Ханенко А.С.¹, Писарева Е.В.¹, Лемба И.Н.¹, Редникина В.Е.¹, Волова Л.Т.², Власов М.Ю.^{1,2}

¹Самарский национальный исследовательский университет, Самара

²Самарский государственный медицинский университет, Самара

arsenijhanenko05@gmail.com

Поиск инновационных средств для профилактики и лечения нарушений метаболизма костной ткани является актуальной задачей практической медицины. При этом следует уделять пристальное внимание установлению безопасности таких средств, соотносению пользы и риска при их дальнейшем применении. К настоящему времени накоплен успешный экспериментальный опыт использования мелких лабораторных животных, в первую очередь грызунов, при доклинической оценке токсичности лекарственных препаратов. Между тем, физиологические показатели функционирования отдельных систем и механизмы их регуляции, клеточный состав и биохимический профиль крови крупных животных остаются недостаточно изученными.

Целью настоящей работы являлась комплексная оценка безопасности внутримышечного введения суспензии минерального костного компонента (МКК) животным. Исследование проведено на свиньях породы "Ливенская" обоего пола массой 14-15 кг. В первой опытной группе однократно делали внутримышечные инъекции суспензии аллогенного МКК в дозировке 100 мг/кг. Второй опытной группе делали 2 инъекции суспензии МКК в аналогичной дозировке с интервалом 14 суток. Контрольным животным делали внутримышечные инъекции стерильного физиологического раствора. Общий срок наблюдения составил 28 суток. Взятие венозной крови на гематологический и биохимический анализ осуществлялось в 1-й (перед введением препарата), 14-й и 28-й день после введения МКК. На 28-е сутки у выведенных из эксперимента животных делали забор фрагментов органов и тканей на гистологические исследования.

Результаты показали, что внутримышечные инъекции МКК не приводили к существенным изменениям большинства гематологических и биохимических показателей крови. Отдельные отклонения в содержании глюкозы, креатинина, изменение активности гамма-глутамилтранспептидазы не выходили за границы нормы для данного вида животных. Отсутствовали патоморфологические признаки поражения мышечной ткани в области инъекции препарата, признаки воспаления и формирования фиброзной капсулы, а также поражения жизненно важных органов свиней. Таким образом, данный вид животных является адекватной биологической моделью для всесторонней оценки безопасности и эффективности действия инновационных препаратов, имеющих потенциал использования для нормализации состояния костной ткани и профилактики остеорезорбции.

9.37. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОК ИНТИМЫ АОРТЫ ЧЕЛОВЕКА

Хованцева У.С.¹, Киселёва Д.Г.², Чередниченко В.Р.¹, Богатырева А.И.¹,
Толстик Т.В.¹, Маркина Ю.В.¹, Маркин А.М.¹

¹Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва

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

ulyusa000@gmail.com

Аорта представляет собой крупнейший сосуд в организме человека. Аорта состоит из трех оболочек, имеющих разнообразный клеточный состав - эндотелиальные клетки, макрофаги, фибробластоподобные и гладкомышечные клетки, нарушение структуры и/или функций которого приводит к развитию сердечно - сосудистых заболеваний (ССЗ).

В настоящем исследовании проведено изучение фагоцитарной активности клеток, входящих в состав интимы аорты человека и их способность интернализировать липопротеины низкой плотности (ЛПНП) с целью оценки их роли в развитии ССЗ. В работе использовали клетки субэндотелиального слоя интимы аорты человека. Фагоцитарную активность клеток определяли с помощью их инкубации с латексными шарами (FluoSpheres carboxylate, 0.5 мкм (Thermo Fisher Scientific, США)) и атерогенными ЛПНП, выделенными из плазмы крови пациентов с ССЗ. Накопление ЛПНП оценивали с использованием флуоресцентного красителя для липидов BDP 630/650 (Lumiprobe, Россия) и ферментативного колориметрического метода - набором Cholesterol Liquicolor (HUMAN, Германия), белок определяли по методу Лоури. Обработку изображений проводили в программе Fiji. Статистическая значимость оценивалась с помощью критерия Краскела-Уоллиса. Описательная статистика проводилась для ненормально распределённых данных, в связи с этим в работе указывали медиану, а также 25 и 75 процентиль. Все значения были предварительно нормированы.

Среднее количество поглощенных шаров на клетку составило $41,5 \pm 5,5$ шт. Статистический анализ данных показал, что клетки интимы аорты человека активно интернализуют ЛПНП. Так, в контрольных группах клеток без добавления ЛПНП медианная интенсивность флуоресценции красителя BDP на клетку составила 0,10 [0,08; 0,13] усл. ед., а в клетках, которые инкубировали с ЛПНП, медианная интенсивность флуоресценции BDP - 0,29 [0,26; 0,32] усл. ед., $p < 0,01$. Медиана нормализованного соотношения холестерина к белку на клетку, без добавления ЛПНП, составила 0,08 [0,04; 0,12], после добавления ЛПНП - 0,19 [0,12; 0,45], $p < 0,05$.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (НИОКТР № 123030700024-4).

9.38. АНАЛИЗ СКОРОСТИ ТРАНСЦИТОЗА У ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ И ГИГАНТСКИХ МНОГОЯДЕРНЫХ КЛЕТОК

Чередниченко В.Р.¹, Киселёва Д.Г.², Хованцева У.С.¹, Толстик Т.В.¹, Богатырева А.И.¹, Маркин А.М.¹

¹Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва

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

vadik2222111@gmail.com

Эндотелий - это однослойный пласт клеток, выстилающий внутреннюю поверхность кровеносных сосудов. Важнейшей функцией эндотелия является транспорт веществ. Трансэндотелиальный транспорт (ТЭТ) контролирует перенос молекул через сосудистую стенку, регулируя приток крови в ткани и участвуя в поддержании нормальной сосудистой функции. Повреждение эндотелия является начальным этапом патологического процесса, который заключается в накоплении липидов и образовании атеросклеротической бляшки внутри сосудистой стенки. При многих патологических процессах в эндотелии наблюдается появление гигантских многоядерных эндотелиальных клеток (ГМЭК). Предполагается, что появление ГМЭК провоцирует развитие атеросклероза.

В нашем исследовании мы использовали клеточную линию эндотелиальных клеток человека (Ea.hy926). ГМЭК получали обрабатывая Ea.hy926 50% раствором полиэтиленгликоля 6000. Для исследования транцитоза использовали планшеты со вставками Transwell (0,4 мкм диаметр пор). Оценивали скорость пропускания липопротеидов низкой плотности, измеряя количество холестерина в верхней и нижней камере спустя 2, 5 и 24 часа. Измерение производили модифицированным методом Фолча с помощью набора для определения холестерина (Cholesterol liquicolor) (HUMAN Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH, Германия).

Скорость трансэндотелиального транспорта мы характеризуем как изменение концентрации холестерина в нижней камере. В ходе исследования мы выяснили, что между скоростью для ГМЭК и Ea.hy926 нет статистически значимых отличий: рост концентрации холестерина в нижней камере заметен спустя 24 часа и не отличается для эндотелиальных и многоядерных клеток. Однако изменения концентрации в верхней камере для ГМЭК и Ea.hy926 отличаются: для ГМЭК понижение концентрации происходит спустя 5 часов, после добавления холестерина, тогда как для Ea.hy926 только спустя 24 часа, что говорит о способности многоядерных клеток аккумулировать ЛПНП больше, чем эндотелиальные клетки.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (НИОКТР № 123030700024-4).

9.39. ОПТИМИЗАЦИЯ ПОСТРОЕНИЯ ПОВЕРХНОСТЕЙ И ВЫДЕЛЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНОВ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ НА ОСНОВЕ ТРЕХМЕРНЫХ ИЗОБРАЖЕНИЙ

Шалыпин С.С.^{1,2}, Портнов С.А.^{1,2}, Богородский А.О.³, Шевченко М.А.¹

¹Институт 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

Построение трехмерной структуры легкого является важной задачей для биологии и медицины. Такие структуры используют для оценки распределения попавших в респираторный тракт с током воздуха частиц в биологических экспериментах, а также для оценки биодоступности ингаляционных форм лекарственных препаратов. Ранее для разбиения дыхательного пути на генерации был предложен многоступенчатый длительный подход с использованием двух различных программных обеспечений и нескольких скриптов. Целью данной работы было оптимизировать процессы построения поверхности респираторного тракта и разделения его на генерации при помощи программного обеспечения Imaris.

Изображения легких модельного организма (мыши) получали при помощи конфокального микроскопа Zeiss LSM780. Оптически очищенные образцы подвергали конфокальной микроскопии. Изображения были получены в виде набора Z - проекций и преобразованы в трехмерное объемное изображение при помощи программного обеспечения Imaris.

В данной работе был использован регион дыхательного дерева, полученный при помощи функции "Crop3D". При помощи функций "Surface" и "Mask" были построены поверхность и маска сегмента дыхательного пути. Операции построения поверхности и маски повторяли несколько раз с использованием различных пороговых значений сигнал/шум, что позволяло удалять лишние регионы и дотраивать недостающие. Для построенной поверхности был применен фильтр удаленности от выбранной точки, что позволило разбить поверхность на регионы.

Таким образом, был отработан подход, позволяющий оптимизировать построение поверхности респираторного тракта. Был предложен метод для определения различных регионов полученной поверхности.

9.40. ПОЛИМЕРНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЕЙ: ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СВОЙСТВ ПОВЕРХНОСТИ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ *IN VITRO* И *IN VIVO*

Юрьева А.М., Шипунова В.О.

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

Технология использования наночастиц на основе сополимера молочной и гликолевой кислот (PLGA) для доставки различных соединений к опухолевым клеткам представляет собой перспективный подход в терапии и диагностике социально-значимых заболеваний. Наноструктуры из PLGA являются полностью биосовместимыми и биodeградируемыми, а также такие наночастицы могут выполнять роль носителей для контролируемого высвобождения низкомолекулярных соединений, таких как химиопрепараты и фотосенсибилизаторы, и других наночастиц в соответствии с необходимой кинетикой данного процесса. Описанные свойства таких наноструктур позволяют повысить эффективность онкотерапии и понизить побочные эффекты стандартных методов химиотерапии. Необходимо отметить, что в настоящее время наноструктуры PLGA уже применяются в клинической практике, но всё ещё существует много неизученных механизмов и факторов, которые могут усилить их эффективность доставки в область опухоли. В данной работе были синтезированы и всесторонне исследованы наноагенты на основе PLGA, а также проведен тщательный анализ физико-химических свойств и биологической активности данных структур. Было изучено влияние различных компонентов синтеза наночастиц на их свойства и способность взаимодействовать с клетками опухоли. А именно, было исследовано, как свойства матрицы, поверхности и внутренних компонентов влияют на химические и физические характеристики наноструктур, а также на их способность связываться с раковыми клетками *in vitro* и *in vivo*.

В ходе исследования было установлено, что свойства поверхности наночастиц оказывают значительное влияние на их цитотоксичность и способность связываться с клетками опухоли. Была показана возможность повышения эффективности биоимиджинга опухолей без увеличения истинного накопления частиц в опухоли при неизменном активном компоненте. Таким образом, данное исследование играет важную роль в понимании механизмов действия наночастиц в организме и открывает перспективы для создания более эффективных и безопасных способов борьбы с онкологическими заболеваниями.

Исследование поддержано РНФ № 22-73-10141 (исследования цитотоксичности) и Минобрнауки России, № 075-03-2023-106, проект FSMG-2023-0015 (*in vivo* исследования) и № 075-01593-23-04, проект 720000F.99.1.BN62AA40000 (флуоресцентная микроскопия).

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Абрикосова В.А.	93	Белялов К.И.	78
Авшалумов А.С.	156	Бершадский Я.В.	8
Азадова Г.Я.	148	Бикмуллин А.Г.	28
Акасов Р.А.	116	Блохин Д.С.	28
Акимов М.Г.	60	Бобков Г.А.	87, 88
Александрова Л.А.	53, 57	Бовин Н.В.	48
Алексеев К.С.	9, 69	Богатырева А.И.	130, 157, 164, 165
Алексеева Л.Г.	89	Богданов А.М.	78
Алексеева Н.А.	89	Богданов И.В.	35, 90, 96, 122
Алиева А.Х.	144, 153, 155	Богданова Д.А.	102
Андреев Я.А.	33	Богородский А.О.	149, 166
Андреева А.М.	128	Бойко А.А.	89, 142
Андреева Т.В.	61	Бойко К.М.	20
Андреев-Андриевский А.А.	15	Борох В.Н.	9
Андрианова А.А.	7	Бортневская Ю.С.	131, 133
Анисимов Н.Р.	5	Бочаров Э.В.	8, 11
Анисимова Д.О.	48	Бочарова О.В.	8
Антипова Н.В.	135, 148, 151	Бочкова Ж.В.	30
Антипова О.М.	77, 81, 83, 86	Брагина Н.А.	131, 133, 147, 158
Антонов К.В.	52	Браже Н.А.	30
Антонова А.О.	127	Бубенчиков М.А.	10
Антошина Д.В.	29	Буданова У.А.	49
Аралов А.В.	70	Бычков М.Л.	15, 16, 34, 99, 107
Арасланова К.Р.	46	Валидов Ш.З.	23
Армеев Г.А.	42	Варфоломеева Л.А.	20
Асатурова А.В.	137	Василевский А.А.	80
Атауллаханов Ф.И.	84	Васильева В.Ю.	106
Афонин Д.А.	42, 61	Вихров А.А.	121
Ачкасова М.А.	108	Власов И.Н.	138
Бабенко В.В.	156	Власов М.Ю.	73, 163
Бажутов Ф.Р.	6	Воденникова А.А.	109
Базарова З.М.	128	Волков П.В.	12
Балабин Ф.А.	84	Волова Л.Т.	163
Баландин С.В.	29	Володин Т.А.	49
Баранов М.С.	64, 73	Воробьев И.И.	113, 125
Баранова М.А.	73	Габибов А.Г.	27, 93, 118, 159
Барыкин А.Д.	7	Гавриленкова А.А.	8, 11
Бауэр И.А.	129	Галямина М.А.	156
Бачева А.В.	13	Гапесев К.В.	12
Безуглов В.В.	60	Гаспарян М.Э.	135, 143
Белкина Е.Г.	44	Гасса М.	94
Беляева Л.А.	62		

Гаямова Е.А.	125	Жарков Т.Д.	129
Генералова А.Н.	116, 121	Жданова К.А.	131, 133, 147, 158
Глазунова Е.В.	117, 134	Завалко Ф.А.	132
Глухов Г.С.	42	Заварзина Я.И.	80
Глушанкова Л.Н.	79	Заварыкина Т.М.	137
Горбачев А.Ю.	156	Замилацков И.А.	62
Горбачёва Е.И.	60	Зарайский А.Г.	46, 105
Горностаева Т.Я.	98	Захаров Н.С.	131, 133, 158
Гороховатский А.Ю.	7, 20	Захарова А.А.	58
Готманова Н.Н.	13	Зацепина А.Б.	52
Градова М.А.	133	Зверева С.Д.	64, 85, 111
Грецкая Н.М.	60	Зенченко А.А.	9, 74
Гречихина М.В.	89, 142	Злобовская О.А.	117, 134
Григорьева Е.Р.	79	Злодеева П.Д.	53
Грин М.А.	147	Иванов Б.М.	81, 86
Громова Т.А.	151	Иванов Д.С.	62
Гулялек Б.	116	Иванова А.С.	46
Данилова Ю.Д.	90	Иванова Т.В.	150
Деев И.Е.	8, 11	Иванцова П.М.	127
Деев С.М.	101, 107, 139, 160	Иллариошкин С.Н.	144, 155
Дементьева Е.В.	134	Исаев А.Б.	15
Демидов О.Н.	102	Исакова А.А.	135
Демина П.А.	116	Кавиладзе М.Г.	148
Джафарова М.М.	151	Казначеева Е.В.	79
Дзариева Ф.М.	77, 81, 86	Калганова А.И.	136
Дмитриенко Е.В.	129, 154	Калиновский Д.В.	101
Долгих Д.А.	30	Капралова М.А.	137
Доминик Е.Е.	86	Карабанов А.В.	144, 155
Дорож О.В.	50	Карпенко И.Л.	57
Доронина О.Б.	155	Карпеченко Н.Ю.	131, 133
Дреничев М.С.	9, 69, 74	Каськова З.М.	7
Дюжева М.А.	14	Качаев З.М.	94
Егоров А.Е.	5	Каюмова Л.Н.	137
Елецкая Б.З.	115	Кезин В.А.	75
Елисеев И.Е.	136	Кербицкая М.Д.	54
Ерошкин Ф.М.	105	Киреева О.К.	64, 111
Ефимова С.С.	53, 58	Кириченко А.В.	99
Ефременко А.В.	61	Кириченко Т.В.	130, 157
Ефременкова О.В.	57	Кирпичников М.П.	15, 16, 18, 21, 42, 98, 107
Ефремов Р.Г.	14	Киселева Е.А.	16
Ештукова-Щеглова Е.А.	51, 55	Киселёва Д.Г.	164, 165
Жадаев В.И.	132		

Китороагэ О.О.	147	Куковьякина Е.В.	143
Класс А.Л.	138	Кукушкин И.Д.	16, 21, 98
Клементьев С.В.	112	Кулешова Ю.Д.	22
Клочков В.В.	28	Куликов А.В.	67
Клочкова Э.А.	28	Куликов А.М.	44
Коваленко В.Л.	82, 103, 132	Куликов Е.Е.	10
Коваленко Е.А.	17	Куликов П.П.	143
Коваленко Е.И.	89, 95	Куликова Ю.В.	112
Козлов С.А.	33	Кульбацкий Д.С.	15, 34
Козлова А.А.	9	Купрюшкин М.С.	129
Коленкова Т.В.	55	Курносов А.С.	117, 134
Колесников Д.О.	79	Кусков А.Н.	143
Колесникова В.В.	26	Кутьменева А.Д.	23
Колесникова О.А.	64, 82, 127, 139	Кухарский М.С.	150
Колесов Д.В.	78	Кушлинский Н.Е.	93
Колесов Д.Э.	113	Лазебный О.Е.	44
Колтунова Л.А.	37	Лапшина К.К.	24
Комарова Г.А.	42	Лебедева Л.А.	43, 94
Комедчикова Е.Н.	82, 139	Леваков С.А.	151
Кондрашова Е.М.	115	Ледяева В.С.	104
Конкина М.А.	9	Лемба И.Н.	163
Конова К.Ю.	43	Летаров А.В.	10
Коновалова М.В.	97	Липатова А.В.	9
Конопатов А.В.	43	Липенский В.М.	56
Константинова И.Д.	52	Лобанова А.А.	39
Конюхова А.С.	145	Ломзов А.А.	70
Копылов А.М.	77, 81, 83, 86	Ломскова П.К.	137
Коренков Е.С.	50, 140	Лукашевич М.В.	144, 153, 155
Корженевский Д.А.	104	Лукашина М.В.	134
Костенко В.В.	109, 141, 142	Лукьянов К.А.	78
Костенко В.В.1	101	Лунегова Д.А.	25
Коцарева О.Д.	97	Лысенко А.В.	138
Кочаровская М.В.	18	Лысыкова Д.В.	100
Кочетков С.Н.	57	Лыткина О.А.	150
Кошкина Д.О.	38	Любителей А.В.	61
Краснова С.А.	64	Люкманова Е.Н.	15-18, 21, 34, 98, 99, 107
Кривицкая А.В.	19		
Крумкачева О.А.	147		
Кудрявцев Д.С.	67, 91	Мазина Л.М.	145
Кудряшова О.М.	104	Мазур Д.В.	135, 148, 151
Кузнецов А.С.	10	Макаров Д.А.	53, 57
Кузнецова Д.А.	20	Макарова А.О.	101, 142
Кузьмин Ю.Б.	93	Макарова Д.М.	54
Кузьева В.И.	116	Максимов Г.В.	30

- | | | | |
|-------------------|------------------------|------------------|------------------------------|
| Малабуйок Д.М. | 93, 118 | Номеровская М.А. | 79 |
| Малеев М.Г. | 26 | Обозина А.С. | 64, 85, 111 |
| Малюченко Н.В. | 38, 39 | Овсянникова О.А. | 142 |
| Маркин А.М. | 130, 157, 164, 165 | Овчинников Р.К. | 150 |
| Маркина Ю.В. | 130, 157, 164 | Овчинникова Т.В. | 29, 31, 35, 90, 96, 122, 161 |
| Мартынюк В.А. | 58 | Окатова А.С. | 41 |
| Мартюшова В.Г. | 119 | Олейников П.Д. | 42 |
| Маслов М.А. | 51, 54-56, 59 | Опрышко В.Е. | 69 |
| Матюгина Е.С. | 115 | Орлов Е.Е. | 105 |
| Матюшенко А.М. | 24 | Орлова Н.А. | 113, 125 |
| Махонин А.М. | 34 | Осетрина Д.А. | 28 |
| Меликов Р.О. | 50 | Ословский В.Е. | 9, 74 |
| Мельникова Д.Н. | 122 | Осмаков Д.И. | 33 |
| Милагина С.В. | 59 | Остроумова О.С. | 53, 58 |
| Минаков Д.А. | 147 | Павлова Г.В. | 77, 81, 83, 86 |
| Миньковская Т.Е. | 40 | Павлова П.А. | 128 |
| Мирзоева М.З. | 27 | Павлова С.А. | 83 |
| Миронов А.Ф. | 115 | Паламарчук А.И. | 92 |
| Михайленко А.Д. | 91 | Панов А.А. | 62 |
| Михайлова И.Н. | 99 | Пантелеев П.В. | 31 |
| Михайлычева М.В. | 156 | Парамонов А.С. | 34 |
| Моисеенко А.В. | 10 | Партевян С.А. | 153 |
| Моисеенко В.Л. | 83 | Паршина Е.А. | 105 |
| Мокрушина Ю.А. | 27, 93, 118, 159 | Петракова О.А. | 147 |
| Моллаева М.Р. | 162 | Петров Е.А. | 93, 118 |
| Молоткова Е.А. | 84 | Петросян Э.Г. | 148 |
| Молчанов В.Г. | 5 | Петрушанко И.Ю. | 22 |
| Морус Е.В. | 67 | Пипия С.О. | 27, 136 |
| Моторин Н.А. | 42 | Писарева Е.В. | 73, 163 |
| Мочалова Е.Н. | 120 | Пичкур Е.Б. | 18 |
| Мухаметзянов Т.А. | 28 | Платов Д.А. | 69 |
| Мушкюрова Д.Р. | 151 | Плотникова Е.А. | 147 |
| Мясоедов М.С. | 121 | Плютинская А.Д. | 147 |
| Надеждин К.Д. | 8 | Побегуц О.В. | 156 |
| Негря С.Д. | 57 | Поденкова У.И. | 37 |
| Нефёдова В.В. | 24 | Покидова О.В. | 67, 145 |
| Никитин М.П. | 50, 111, 132, 139, 140 | Полунина Ю.А. | 94 |
| Никольская Е.Д. | 131, 162 | Попов В.О. | 21 |
| Никонов О.С. | 26 | Попова И.С. | 48 |
| Никонова Е.Ю. | 26 | Попова М.К. | 43 |
| Новиков В.Ю. | 5 | Портнов С.А. | 149, 166 |
| Новикова В.О. | 67, 145 | Потапов А.Е. | 122 |
| Нольде Д.Е. | 18 | | |

Потемкина А.А.	29	Середина Т.А.	119
Потуданская М.О.	87, 88	Серова О.В.	8, 11, 159
Простякова А.И.	121	Сивопляс Е.А.	44
Прошкина Г.М.	160	Сивкина А.Л.	42
Пукаева Н.Е.	150	Сизиков А.А.	50, 85, 103
Пухальская Т.В.	102	Сикамов К.В.	156
Пухов С.А.	150	Сингх-Пальчевская Л.Р.	42
Пучков П.А.	54, 55, 59	Синегубова М.В.	113
Пушкаревская А.А.	70	Сироткин А.С.	112
Редникина В.Е.	163	Ситдикова А.Р.	109
Резекина А.И.	151	Скобелева К.В.	79
Решетин Д.С.	79	Сломинский П.А.	138, 153, 155
Рожникова Т.В.	71	Слонимский Ю.Б.	25
Роман С.Г.	24	Случанко Н.Н.	20, 21, 25
Романов Г.А.	9	Смагина В.В.	62
Романовская К.С.	123	Смирнов А.Ю.	62, 69
Росинская А.В.	155	Смирнов И.В.	27, 93, 118, 136, 159
Рубель М.С.	87, 88	Смирнов И.П.	156
Руденок М.М.	144, 153, 155	Смирнова Е.О.	41
Рудик Д.И.	73	Смирнова О.М.	30
Ручкин Д.А.	78	Сокол М.Б.	162
Рыболовлев И.Н.	153	Соколова О.С.	10
Рыжов И.М.	48	Сохранева В.А.	75
Рязанцев Д.Ю.	97	Сочилина А.В.	116, 121
Савельева Е.М.	9, 74	Стрельцова М.А.	92
Савченко Е.А.	77	Студитский В.М.	38, 39, 42, 61, 76
Савченко М.С.	48	Суворов Н.В.	147
Салагаев Г.И.	138	Сударикова А.В.	100
Самойленко Ф.О.	73	Султанов А.	73
Самойленкова Н.С.	81	Сулягин В.К.	104
Санина Н.А.	67, 145	Сучков М.Ю.	116
Сапожников А.М.	142	Татьяненко Л.В.	145
Сафронова В.Н.	31	Тепловодская Ю.С.	31
Светлакова А.В.	103, 132	Терехов С.С.	27, 93, 118, 136, 159
Свищёвская Е.В.	101, 109, 141, 142	Терещенков А.Г.	6
Себякин Ю.Л.	49	Терёшина Е.Д.	82, 124
Седельникова А.Ю.	154	Терёшина М.Б.	46
Седых С.Е.	119	Тимошина П.С.	105
Семаков А.В.	150	Тимченко М.А.	5
Семенова Е.И.	144, 153, 155	Тихонов С.И.	147
Семенова М.А.	30	Толстик Т.В.	130, 157, 164, 165
Семенова Ю.Д.	74	Топоркова Я.Ю.	41
Сергеев И.С.	116	Торопыгин И.Ю.	128

Третьяченко Я.Д.	73	Чиркина М.В.	162
Тыртыш Т.В.	48	Чуб А.С.	86
Уразаева Д.Р.	156	Чубинский-Надеждин В.И.	106
Усанёв А.Ю.	158	Чугунов А.О.	14, 80
Усачев К.С.	28	Чудаков Д.Б.	97
Устюжанина М.О.	95	Чудаков Д.М.	95
Фадеева А.А.	7	Шабельников С.В.	34
Файзуллина Э.А.	159	Шагдарова Б.Ц.	141
Фатеева С.И.	96	Шадрина М.И.	138, 144, 153, 155
Фаттахова Г.В.	97	Шайтан А.К.	42
Федоров А.Ю.	109	Шайфутдинов Р.Р.	125
Федотова Е.Ю.	155	Шалыгин А.В.	79
Федулова Ф.С.	42	Шаляпин С.С.	149, 166
Феофанов А.В.	38, 39, 42, 61, 76	Шахова Е.С.	20
Фескин П.Г.	42	Швец Д.А.	45
Филатова Е.В.	138	Шевченко М.А.	149, 166
Филимонова В.П.	160	Шевченко О.В.	35, 96
Филонов В.Л.	32	Шенкарев З.О.	17, 18, 34, 107
Финкина Е.И.	35, 90, 96, 161	Шепелев М.В.	40, 45
Хабас Г.Н.	137	Шерстяных Г.Д.	60
Хадур Н.	60	Шидловский Ю.В.	43, 94
Хайдуков Е.В.	116	Шипулин Г.А.	117, 134
Хайруллина З.М.	106	Шипунова В.О.	64, 71, 82, 85, 103, 107, 111, 124, 126, 127, 132, 139, 167
Хакимова Э.И.	162	Ширяев Н.А.	131, 133
Хандажинская А.Л.	75	Шитиков А.Д.	46
Ханенко А.С.	163	Шкоденко Л.А.	108
Хасанов Т.А.	33	Шлепова О.В.	16, 98, 107
Хованцева У.С.	130, 164, 165	Шмендель Е.В.	54
Холоденко Р.В.	101	Шохина А.Г.	104
Хохлова С.В.	137	Шрамова Е.И.	160
Хренова М.Г.	19	Шубенкова Е.Г.	75
Царапаев П.В.	93	Шулепко М.А.	16, 17, 21, 34, 98, 107
Цимоха А.С.	37	Шульская М.В.	153, 155
Чепурных Т.В.	20	Щегравина Е.С.	109
Чередниченко В.Р.	130, 157, 164, 165	Щекутьева Е.О.	87, 88
Черкасов В.Р.	124	Элпидина Е.Н.	14
Чернавская В.С.	60	Юльметов А.Р.	28
Черников А.М.	34	Юрьева А.М.	167
Черникова П.А.	76		
Черткова Р.В.	30		
Чиканова Е.С.	12		

Яббаров Н.Г.	162
Яголович А.В.	135, 143
Якушкина Ю.В.	47
Ямпольский И.В.	7, 20
Ясько М.В.	57
Aravin A.A.	36
Chepurnyh T.	110
Dobronos M.	110
Godneeva B.K.	36
Kondrashov F.	110
Mengdie Z.	17

СОДЕРЖАНИЕ

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

СЕКЦИЯ 1

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ПЕПТИДОВ И БЕЛКОВ. БИОКАТАЛИЗ

- 1.1. АНТИМИКРОБНЫЙ ПЕПТИД ИЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КРАБА-СТРИГУНА (*CHIRONOECETES OPILIO*)
Анисимов Н.Р., Молчанов В.Г., Егоров А.Е., Новиков В.Ю., Тимченко М.А. 5
- 1.2. ТРИФЕНИЛФОСФОНИЕВЫЕ АНАЛОГИ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА АПИДЕЦИНА: АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ И МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ
Бажутов Ф.Р., Терещенков А.Г. 6
- 1.3. БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АНАЛОГОВ ГРИБНОГО ЛЮЦИФЕРИНА
Барыкин А.Д., Гороховатский А.Ю., Каськова З.М., Андрианова А.А., Фадеева А.А., Ямольский И.В. 7
- 1.4. ВЛИЯНИЕ МУТАЦИИ НА СТРУКТУРУ И ДИНАМИКУ ТРАНСМЕМБРАННОГО ДОМЕНА РЕЦЕПТОРА ПОДОБНОГО ИНСУЛИНОВОМУ
Бершацкий Я.В., Гавриленкова А.А., Бочарова О.В., Надеждин К.Д., Серова О.В., Деев И.Е., Бочаров Э.В. 8
- 1.5. СИНТЕЗ И СВОЙСТВА ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОЗИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ ЛИПОФИЛЬНЫЙ ХИРАЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ
Борох В.Н., Козлова А.А., Конкина М.А., Алексеев К.С., Дреничев М.С., Ословский В.Е., Зенченко А.А., Липатова А.В., Савельева Е.М., Романов Г.А. 9
- 1.6. СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ Stx-ФАГА Ф24_B
Бубенчиков М.А., Моисеенко А.В., Кузнецов А.С., Куликов Е.Е., Летаров А.В., Соколова О.С. 10
- 1.7. АНАЛИЗ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ МУТАНТНЫХ ФОРМ ИНСУЛИНОПОДОБНОГО ФАКТОРА РОСТА (IGF-IR)
Гавриленкова А.А., Деев И.Е., Бочаров Э.В., Серова О.В. 11
- 1.8. РЕКОМБИНАНТНАЯ ДЕКСТРАНАЗА - АГЕНТ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ БИОКОНВЕРСИИ КОМПОНЕНТОВ ЗУБНОГО НАЛЕТА
Гапеев К.В., Чиканова Е.С., Волков П.В. 12
- 1.9. ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕОСТАЗА ПОЛНОРАЗМЕРНОГО МУТАНТНОГО ХАНТИНГИНА В РАМКАХ КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ХАНТИНГТОНА
Готманова Н.Н., Бачева А.В. 13
- 1.10. КОМПЬЮТЕРНЫЙ РЕДИЗАЙН КАТЕПСИНА L С ЦЕЛЬЮ ПОВЫШЕНИЯ ЕГО КИСЛОТНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ
Дюжеева М.А., Ефремов Р.Г., Элидина Е.Н., Чугунов А.О. 14

1.11.	ТРЕХПЕТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ ЧЕЛОВЕКА Lypd6A и Lypd6B ЯВЛЯЮТСЯ НЕГАТИВНЫМИ РЕГУЛЯТОРАМИ СТРУКТУРНОЙ И СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ МОЗГА <i>Исаев А.Б., Кульбацкий Д.С., Бычков М.Л., Андреев-Андреевский А.А., Кирпичников М.П., Люкманова Е.Н.</i>	15
1.12.	ВЫЯВЛЕНИЕ ЭПИТОПОВ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СЕКРЕТИРУЕМОГО БЕЛКА ЧЕЛОВЕКА SLURP-1 С РЕЦЕПТОРОМ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА <i>Киселева Е.А., Кукушкин И.Д., Бычков М.Л., Шлепова О.В., Шуленко М.А., Кирпичников М.П., Люкманова Е.Н.</i>	16
1.13.	РЕКОМБИНАНТНАЯ ПРОДУКЦИЯ В КЛЕТКАХ <i>E. coli</i> ИНГИБИТОРА КАНАЛА TRPA1 - ТОКСИНА ProTx-I <i>Коваленко Е.А., Mengdie Z., Шуленко М.А., Шенкарев З.О., Люкманова Е.Н.</i>	17
1.14.	СТРУКТУРА И ДИНАМИКА КОМПЛЕКСА АНТИТЕЛА REGN10987 И S-БЕЛКОВ ДЕЛЬТА- И ОМИКРОН-ВАРИАНТОВ SARS-CoV-2 <i>Кочаровская М.В., Шенкарев З.О., Пичкур Е.Б., Нольде Д.Е., Кирпичников М.П., Люкманова Е.Н.</i>	18
1.15.	МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ, СВЯЗАННЫЕ С ГИДРОЛИЗОМ β -ЛАКТАМНЫХ АНТИБИОТИКОВ <i>Кривицкая А.В., Хренова М.Г.</i>	19
1.16.	ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПРЕССИЯ, ОЧИСТКА И ХАРАКТЕРИСТИКА ГИСПИДИН-3-ГИДРОКСИЛАЗЫ ИЗ <i>ARMILLARIA OSTOYAE</i> <i>Кузнецова Д.А., Чепурных Т.В., Гороховатский А.Ю., Варфоломеева Л.А., Бойко К.М., Шахова Е.С., Случанко Н.Н., Ямпольский И.В.</i>	20
1.17.	НОВЫЙ МЕХАНИЗМ РЕГУЛЯЦИИ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ <i>Кукушкин И.Д., Шуленко М.А., Случанко Н.Н., Попов В.О., Кирпичников М.П., Люкманова Е.Н.</i>	21
1.18.	ИЗМЕНЕНИЯ СВОЙСТВ ОБЫЧНОГО И СЕРПОВИДНОГО ГЕМОГЛОБИНА ЧЕЛОВЕКА ПРИ НЕКОВАЛЕНТНОМ И КОВАЛЕНТНОМ СВЯЗЫВАНИИ С ГЛУТАТИОНОМ <i>Кулешова Ю.Д., Петрушианко И.Ю.</i>	22
1.19.	ВЛИЯНИЕ ДЕЛЕЦИИ ГЕНА ЭЛОНГАЦИОННОГО ФАКТОРА Р (EF-R) НА СЕКРЕЦИЮ ПРОТЕАЗ У ЗОЛОТИСТОГО СТАФИЛОКОККА <i>Кузьменева А.Д., Валидов Ш.З.</i>	23
1.20.	ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ ИЗОФОРМ ТРОПОМИОЗИНА Trpm1.8 И Trpm1.9 <i>Латишина К.К., Роман С.Г., Нефёдова В.В., Матюшенко А.М.</i>	24
1.21.	ЛИГАНДНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ И СПЕКТРАЛЬНЫЕ РАЗЛИЧИЯ "РОЗОВЫХ" И "ОРАНЖЕВЫХ" ГОМОЛОГОВ КАРОТИНОИД-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА AstaP <i>Лунегова Д.А., Слонимский Ю.Б., Случанко Н.Н.</i>	25

- 1.22. ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТНЫХ ФОРМ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА eIF4E
Solanum tuberosum, НЕСУЩИХ АМИНОКИСЛОТНЫЕ
ФОСФОМИМИЧЕСКИЕ ЗАМЕНЫ В ПОЛОЖЕНИЯХ
ПРЕДСКАЗАННЫХ САЙТОВ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ
Малеев М.Г., Колесникова В.В., Никонов О.С., Никонова Е.Ю. 26
- 1.23. ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРА СУБСТРАТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ
ЛАНТИОНИН-СИНТЕТАЗЫ III КЛАССА AncKC
Мирзоева М.З., Пипия С.О., Мокрушина Ю.А., Габибов А.Г., Смирнов
И.В., Терехов С.С. 27
- 1.24. СТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФИБРИЛЛООБРАЗУЮЩИХ
ПЕПТИДНЫХ ФРАГМЕНТОВ БЕЛКА СЕМЕНОГЕЛИНА I
Осетрина Д.А., Юльметов А.Р., Бикмуллин А.Г., Мухаметзянов Т.А.,
Клочкова Э.А., Усачев К.С., Клочков В.В., Блохин Д.С. 28
- 1.25. ВЛИЯНИЕ ИОННОГО СОСТАВА СРЕДЫ НА АНТИМИКРОБНУЮ
АКТИВНОСТЬ ЛАНТИБИОТИКА ЛИХЕНИЦИДИНА
Потемкина А.А., Антошина Д.В., Баландин С.В., Овчинникова Т.В. 29
- 1.26. ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН В ПРЕДПОЛАГАЕМОМ
ИНТЕРФЕЙСЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НА ПРОТЕКАНИЕ
ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ МЕЖДУ
НЕЙРОГЛОБИНОМ И ЦИТОХРОМОМ C
Семенова М.А., Бочкова Ж.В., Смирнова О.М., Браже Н.А.,
Максимов Г.В., Долгих Д.А., Черткова Р.В. 30
- 1.27. ИЗУЧЕНИЕ ПРИРОДНОГО БИОРАЗНООБРАЗИЯ И
ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА АНТИМИКРОБНЫХ
ПЕПТИДОВ СЕМЕЙСТВА ТАНАТИНОВ У НАСЕКОМЫХ
Тепловодская Ю.С., Сафронова В.Н., Пантелеев П.В.,
Овчинникова Т.В. 31
- 1.28. НОВЫЕ ХИМИЧЕСКИЕ РЕГУЛЯТОРЫ АКТИВНОСТИ ЦИТОЗИН-C5-
ДНК-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ Dnmt3a И ГЛУТАМАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ
Филонов В.Л. 32
- 1.29. ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ МУТАНТНЫХ АНАЛОГОВ
ПЕПТИДА UGR9A-1, СЕЛЕКТИВНОГО ИНГИБИТОРА ASIC3
КАНАЛОВ
Хасанов Т.А., Козлов С.А., Андреев Я.А., Осмаков Д.И. 33
- 1.30. ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ, ФУНКЦИЙ И ФАРМАКОЛОГИИ
БЕЛКА Lystar5 ИЗ МОРСКОЙ ЗВЕЗДЫ *Asterias rubens*
Черников А.М., Шулепко М.А., Парамонов А.С., Махонин А.М.,
Бычков М.Л., Кульбацкий Д.С., Шабельников С.В., Шенкарев З.О.,
Люкманова Е.Н. 34
- 1.31. ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКОТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА
ДЕФЕНСИНА ТАБАКА NaD1
Шевченко О.В., Богданов И.В., Овчинникова Т.В., Финкина Е.И. 35

СЕКЦИЯ 2

ГЕНЫ И ГЕНОМЫ. МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ. ГЕНОМНОЕ РЕДАКТИРОВАНИЕ

- 2.1. SUMOYLATION OF BONUS SAFEGUARDS TISSUE IDENTITY BY RECRUITING REPRESSIVE COMPLEXES IN THE DROSOPHILA OVARY
Godneeva B.K., Aravin A.A. 36
- 2.2. ПОЛУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ ДЛЯ СОЗДАНИЯ С ПОМОЩЬЮ СИСТЕМЫ CRISPR/Cas9 РЕПОРТЕРНОЙ ЛИНИИ ЭСК МЫШИ LMP7-TAGRFP
Колтунова Л.А., Поденкова У.И., Цимоха А.С. 37
- 2.3. ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ ХРОМАТИНА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЛИНКЕРНЫХ ГИСТОНОВ
Кошкина Д.О., Малюченко Н.В., Феофанов А.В., Студитский В.М. 38
- 2.4. ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СТРУКТУРЫ НУКЛЕОСОМ БЕЛКАМИ СЕМЕЙСТВА PARP
Лобанова А.А., Малюченко Н.В., Феофанов А.В., Студитский В.М. 39
- 2.5. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМЫ РЕКОМБИНАЦИИ Vxb1 ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОЙ ИНТЕГРАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ В ЗАДАННОЕ МЕСТО ГЕНОМА МЛЕКОПИТАЮЩИХ
Миньковская Т.Е., Шепелев М.В. 40
- 2.6. АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЛИПОКСИГЕНАЗНОГО КАСКАДА ЛЬНА ОБЫКНОВЕННОГО (*Linum usitatissimum*) ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ *Pectobacterium atrosepticum*
Окатова А.С., Смирнова Е.О., Топоркова Я.Ю. 41
- 2.7. КОМБИНИРОВАННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НУКЛЕОСОМ И ПЕПТИДОВ С ВЫСОКОЙ АФФИННОСТЬЮ К КИСЛОТНОМУ ЛОСКУТУ МЕТОДАМИ СТРУКТУРНОЙ БИОИНФОРМАТИКИ, МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ, ПОЛЯРИЗАЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ И spFRET-МИКРОСКОПИИ
Олейников П.Д., Федулова Ф.С., Армеев Г.А., Моторин Н.А., Сингх-Пальчевская Л.Р., Сивкина А.Л., Фескин П.Г., Глухов Г.С., Афонин Д.А., Комарова Г.А., Кирпичников М.П., Студитский В.М., Феофанов А.В., Шайтан А.К. 42
- 2.8. ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ p53-ЗАВИСИМОГО ЭНХАНСЕРА 75C6 И ГЕНА *Xrp1* У ДРОЗОФИЛЫ
Попова М.К., Конопатов А.В., Конова К.Ю., Лебедева Л.А., Шидловский Ю.В. 43
- 2.9. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИОННОЙ АКТИВНОСТИ ВЫСОКОКОНСЕРВАТИВНОГО ГЕНА *Ras85D*
Сивовляс Е.А., Белкина Е.Г., Лазебный О.Е., Куликов А.М. 44
- 2.10. Cas9-ФБЮЖН БЕЛКИ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ГОМОЛОГИЧНОЙ РЕКОМБИНАЦИИ
Швец Д.А., Шепелев М.В. 45

2.11.	ГЕНЫ РЕГЕНЕРАЦИИ, ИСЧЕЗНУВШИЕ В ХОДЕ ЭВОЛЮЦИИ ПОЗВОНОЧНЫХ <i>Шитиков А.Д., Арасланова К.Р., Иванова А.С., Терёшина М.Б., Зарайский А.Г.</i>	46
2.12	ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМ ПРОМОТОРНОЙ ОБЛАСТИ ГЕНА hTERT <i>Якушкина Ю.В.</i>	47

СЕКЦИЯ 3

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ, УГЛЕВОДОВ И НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ

3.1.	СИНТЕЗ ТЕТРАСАХАРИДА А (ТИП 2) В ФОРМЕ ГЛИКОЗИЛ-АКЦЕПТОРА <i>Анисимова Д.О., Савченко М.С., Попова И.С., Тыртыши Т.В., Бовин Н.В., Рыжов И.М.</i>	48
3.2.	ТЕТРААЦИЛПРОИЗВОДНЫЕ L-ЦИСТИНА В КАЧЕСТВЕ ОСНОВЫ СИСТЕМ ДОСТАВКИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ <i>Володин Т.А., Буданова У.А., Себякин Ю.Л.</i>	49
3.3.	РАЗРАБОТКА МЕТОДА СИНТЕЗА ЛИПИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ С КОНТРОЛИРУЕМЫМИ СВОЙСТВАМИ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ И МАЛЫХ МОЛЕКУЛ В КЛЕТКИ <i>Дорож О.В., Меликов Р.О., Коренков Е.С., Сизиков А.А., Никитин М.П.</i>	50
3.4.	МУЛЬТИВАЛЕНТНЫЕ АДРЕСНЫЕ УГЛЕВОДСОДЕРЖАЩИЕ ЛИПОКОНЪЮГАТЫ ДЛЯ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ <i>Ештукова-Щеглова Е.А., Маслов М.А.</i>	51
3.5.	УСОВЕРШЕНСТВОВАННЫЙ МЕТОД ХИМИЧЕСКОГО СИНТЕЗА 3-ФТОР-3-ДЕЗОКСИСИЛОФУРАНОЗЫ КАК СИНТОНА ДЛЯ СИНТЕЗА НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ НУКЛЕОЗИДОВ <i>Зацепина А.Б., Антонов К.В., Константинова И.Д.</i>	52
3.6.	ВЫЯВЛЕНИЕ МЕМБРАННОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОЗИДОВ <i>Злодеева П.Д., Ефимова С.С., Александрова Л.А., Макаров Д.А., Остроумова О.С.</i>	53
3.7.	СИНТЕЗ ПРЕДШЕСТВЕННИКА РАЗВЕТВЛЁННОГО ПЭГ-СОДЕРЖАЩЕГО ЛИПИДА <i>Кербицкая М.Д., Шмендель Е.В., Макарова Д.М., Пучков П.А., Маслов М.А.</i>	54
3.8.	ГАЛАКТОЗИЛИРОВАННЫЕ АДРЕСНЫЕ ЛИПОКОНЪЮГАТЫ ДЛЯ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ <i>Коленкова Т.В., Ештукова-Щеглова Е.А., Пучков П.А., Маслов М.А.</i>	55
3.9.	СИНТЕЗ ЛИПОКОНЪЮГАТОВ С АДРЕСНЫМИ ПЕПТИДАМИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕАКЦИИ МИХАЭЛЯ <i>Липенский В.М., Маслов М.А.</i>	56

- 3.10. ОЛИГОГЛИКОЛЕВЫЕ ПРОЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ПОДХОД К ПОВЫШЕНИЮ БИОДОСТУПНОСТИ ЛИПОФИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НУКЛЕОЗИДОВ
Макаров Д.А., Негря С.Д., Ясько М.В., Карпенко И.Л., Ефременкова О.В., Александрова Л.А., Кочетков С.Н. 57
- 3.11. РАСТИТЕЛЬНЫЕ ПОЛИФЕНОЛЫ - МОДИФИКАТОРЫ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МЕМБРАН
Мартынюк В.А., Ефимова С.С., Захарова А.А., Остроумова О.С. ... 58
- 3.12. РЕГИОСЕЛЕКТИВНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ЛИПОФИЛЬНЫХ ПОЛИАМИНОВ ДЛЯ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ
Милагина С.В., Пучков П.А., Маслов М.А. 59
- 3.13. РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЛИФЕРАЦИИ И ГИБЕЛИ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ СИСТЕМОЙ ЭНДОГЕННЫХ ЛИПИДОВ ГРУППЫ ЭНДОКАННАБИНОИДОВ
Щерстяных Г.Д., Хагур Н., Чернавская В.С., Горбачёва Е.И., Грецкая Н.М., Акимов М.Г., Безуглов В.В. 60

СЕКЦИЯ 4

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

- 4.1. ИЗУЧЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ EGCG НА СТРУКТУРУ НУКЛЕОСОМ И ХРОМАТОСОМ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ ОДИНОЧНЫХ ЧАСТИЦ
Андреева Т.В., Ефременко А.В., Любителиев А.В., Афонин Д.А., Студитский В.М., Феофанов А.В. 61
- 4.2. ИССЛЕДОВАНИЕ ГИДРОГЕЛЕЙ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ МЕТОДОМ ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ
Беляева Л.А., Смагина В.В., Панов А.А., Замилацков И.А. 62
- 4.3. НОВЫЙ ПОДХОД К ПОЛУЧЕНИЮ БЕНЗОПИРИДО-[1,2]-ОКСАЗИН-2,4-ДИОНОВ - ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
Иванов Д.С., Смирнов А.Ю. 62
- 4.4. ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ HER2-СПЕЦИФИЧНЫХ НАНОЧАСТИЦ ПОСРЕДСТВОМ ОПТИМИЗАЦИИ ИХ ПОВЕРХНОСТИ, НАПРАВЛЕННОЙ НА УСИЛЕННОЕ СВЯЗЫВАНИЕ С КЛЕТКАМИ В pH ОПУХОЛЕВОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ
Колесникова О.А., Зверева С.Д., Киреева О.К., Обозина А.С., Шипунова В.О. 64
- 4.5. АРИЛИДЕН-ИМИДАЗОЛЫ КАК НОВЫЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ СЕНСОРЫ ИОНОВ КАДМИЯ И ЦИНКА
Краснова С.А., Баранов М.С. 64
- 4.6. МОДЕЛИРОВАНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ АЗЕМИОПСИНА
Морус Е.В., Кудрявцев Д.С. 67

4.7.	ПРИМЕНЕНИЕ ЭПР-, УФ-СПЕКТРОСКОПИИ И РЕАКЦИИ ГРИССА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА С ТИОСУЛЬФАТНЫМИ И 3,4-ДИХЛОРТИОФЕНОЛЬНЫМИ ЛИГАНДАМИ С МУЦИНОМ <u>Новикова В.О., Покидова О.В., Куликов А.В., Санина Н.А.</u>	67
4.8.	СИНТЕЗ 2-АМИНО-АРИЛИДЕН-АЗОЛОНОВ ИЗ N-МОНОЗАМЕЩЕННЫХ АМИНОБЕНЗАЛЬДЕГИДОВ <u>Опрышко В.Е., Смирнов А.Ю.</u>	68
4.9.	РАЗРАБОТКА АЛЬТЕРНАТИВНЫХ ПОДХОДОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ДИСАХАРИДНЫХ НУКЛЕОЗИДОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ <u>Платов Д.А., Дреничев М.С., Алексеев К.С.</u>	69
4.10.	ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ОЛИГОДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОТИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ МОДИФИКАЦИЮ ПО ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКОМУ ОСНОВАНИЮ <u>Пушкаревская А.А., Аралов А.В., Ломзов А.А.</u>	70
4.11.	НАНОЧАСТИЦЫ СЕРЕБРА, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ АДРЕСНЫМИ МОЛЕКУЛАМИ, ДЛЯ ФОТОТЕРАПИИ HER2-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ <u>Рожникова Т.В., Шипунова В.О.</u>	71
4.12.	НОВЫЕ СЕРОСОДЕРЖАЩИЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ХРОМОФОРА GFP <u>Рудик Д.И., Баранов М.С.</u>	72
4.13.	СОРБЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ПОВЕРХНОСТИ МИНЕРАЛЬНО-ОРГАНИЧЕСКОГО КОСТНОГО КОМПОНЕНТА <u>Самойленко Ф.О., Султанов А., Писарева Е.В., Власов М.Ю., Баранова М.А., Третьяченко Я.Д.</u>	73
4.14.	НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ №-БЕНЗИЛАДЕНОЗИНА С РЕЦЕПТОР- СПЕЦИФИЧНОЙ ЦИТОКИНИНОВОЙ И АНТИЦИТОКИНИНОВОЙ АКТИВНОСТЬЮ <u>Семенова Ю.Д., Зенченко А.А., Савельева Е.М., Дреничев М.С., Ословский В.Е.</u>	74
4.15.	ПОДХОДЫ К ПОВЫШЕНИЮ БИОДОСТУПНОСТИ 5'-НОРКАРБОЦИКЛИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДНОГО 5-ТЕТРАДЕЦИНИЛАЦИЛА С ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ <u>Сохранева В.А., Кезин В.А., Шубенкова Е.Г., Хандажинская А.Л.</u>	75
4.16.	ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИ АКТИВНОГО КЕМПФЕРОЛА НА СТРУКТУРУ ХРОМАТИНА В КОНТЕКСТЕ НУКЛЕОСОМ И ХРОМАТОСОМ <u>Черникова П.А., Феофанов А.В., Студитский В.М.</u>	76

СЕКЦИЯ 5

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УЗНАВАНИЯ БИОМОЛЕКУЛ И ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛОВ В КЛЕТКЕ

- 5.1. АПТАМЕРЫ К EGFR ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ОПУХОЛЕВОГО МАРКЕРА НА КЛЕТКАХ ГЛИОБЛАСТОМЫ
Антипова О.М., Дзариева Ф.М., Савченко Е.А., Павлова Г.В., Копылов А.М. 77
- 5.2. ХЕМОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ИНСТРУМЕНТ НА ОСНОВЕ ВКУСОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НАСЕКОМЫХ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ БЕТА-КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
Белялов К.И., Ручкин Д.А., Лукьянов К.А., Богданов А.М., Колесов Д.В. ... 78
- 5.3. РОЛЬ ДЕПО-УПРАВЛЯЕМЫХ КАНАЛОВ Orai В АКТИВАЦИИ ЭНДОГЕННЫХ КАЛЬЦИЙ-АКТИВИРУЕМЫХ ХЛОРНЫХ КАНАЛОВ ANO6 В КЛЕТКАХ HEK293
Григорьева Е.Р., Номеровская М.А., Решетин Д.С., Глушанкова Л.Н., Скобелева К.В., Шалыгин А.В., Казначеева Е.В., Колесников Д.О. ... 79
- 5.4. ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО ЗАРЯДА НЕДОСТАТОЧНО: ЗАМЕНА КЛЮЧЕВОГО АРГИНИНА НА ЛИЗИН В НЕЙРОТОКСИНЕ BeKm-1 ЗНАЧИТЕЛЬНО СНИЖАЕТ ЕГО АКТИВНОСТЬ В ОТНОШЕНИИ hERG-КАНАЛОВ
Заварзина Я.И., Василевский А.А., Чугунов А.О. 80
- 5.5. ПРИМЕНЕНИЕ АНТИ-EGFR АПТАМЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКИ ДОКСОРУБИЦИНА В КЛЕТКИ
Иванов Б.М., Антипова О.М., Дзариева Ф.М., Самойленкова Н.С., Павлова Г.В., Копылов А.М. 81
- 5.6. ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ РАКОВЫХ ОПУХОЛЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАГНИТНО-ПОЛИМЕРНЫХ НАНОЧАСТИЦ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛЕКТИНАМИ
Коваленко В.Л., Комедчикова Е.Н., Терёшина Е.Д., Колесникова О.А., Шипунова В.О. 82
- 5.7. ВОЗМОЖНОСТИ ДЕТЕКЦИИ ПОВЕРХНОСТНОГО АНТИГЕНА CD133 В ОБРАЗЦАХ КЛЕТОК ГЛИОМ С ПОМОЩЬЮ АПТАМЕРОВ
Моисеенко В.Л., Антипова О.М., Павлова С.А., Павлова Г.В., Копылов А.М. 83
- 5.8. РОЛЬ СТОХАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В КОЛЕБАНИЯХ КОНЦЕНТРАЦИИ КАЛЬЦИЯ В ТРОМБОЦИТАХ
Молоткова Е.А., Атауллаханов Ф.И., Балабин Ф.А. 84
- 5.9. ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ПРЕИМУЩЕСТВО ДВУХСТАДИЙНОЙ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ИНКАПСУЛИНОВЫХ НАНОЧАСТИЦ, ЗАГРУЖЕННЫХ ДОКСОРУБИЦИНОМ, ПО СРАВНЕНИЮ С ОДНОСТАДИЙНОЙ ДОСТАВКОЙ К HER2-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ ОПУХОЛЯМ
Обозина А.С., Зверева С.Д., Сизиков А.А., Шипунова В.О. 85

- 5.10. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ G-КВАДРУПЛЕКСА γ G3T ДЛЯ ДОСТАВКИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ В ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ ГЛИОБЛАСТОМЫ ПАЦИЕНТОВ
Чуб А.С., Иванов Б.М., Антипова О.М., Доминик Е.Е., Дзариева Ф.М., Павлова Г.В., Копылов А.М. 86
- 5.11. РАЗРАБОТКА НОВЫХ РАЗДЕЛЬНЫХ ТИПОВ СЕНСОРОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ CRYSTAL VIOLET ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ
Щекутьева Е.О., Потуданская М.О., Бобков Г.А., Рубель М.С. 87
- 5.12. РАЗРАБОТКА НОВЫХ РАЗДЕЛЬНЫХ ТИПОВ СЕНСОРОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ DaroXyl ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ
Щекутьева Е.О., Потуданская М.О., Бобков Г.А., Рубель М.С. 88

СЕКЦИЯ 6

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ ОСНОВЫ ИММУНИТЕТА

- 6.1. ЛИЦЕНЗИРОВАННЫЕ НК-КЛЕТКИ NKG2C⁺ - ПЕРСПЕКТИВНАЯ ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЭФФЕКТОРОВ ПРОТИВ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЕЙ
Алексеева Н.А., Бойко А.А., Алексеева Л.Г., Гречихина М.В., Коваленко Е.И. 89
- 6.2. ИССЛЕДОВАНИЕ СЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ АЛЛЕРГЕНА СОИ Gly m 4
Данилова Ю.Д., Богданов И.В., Овчинникова Т.В., Финкина Е.И. 90
- 6.3. ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ СУБЪЕДИНИЦ ГАМК-А РЕЦЕПТОРОВ В МАКРОФАГАХ ПРИ РАЗНЫХ ТИПАХ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ
Михайленко А.Д., Кудрявцев Д.С. 91
- 6.4. ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ hTERT В ВЫЖИВАНИИ КЛЕТОК ПРИ ЕЁ ОВЕРЭКСПРЕССИИ В НК-КЛЕТКАХ, КОТОРЫЕ БЫЛИ ДОПОЛНИТЕЛЬНО МОДИФИЦИРОВАНЫ СУИЦИДНОЙ КОНСТРУКЦИЕЙ НА ОСНОВЕ КАСПАЗЫ 9 (iCasp9)
Паламарчук А.И., Стрельцова М.А. 92
- 6.5. РАК ОБОДОЧНОЙ КИШКИ ХАРАКТЕРИЗУЕТСЯ ПОВЫШЕННОЙ ПРЕДСТАВЛЕННОСТЬЮ ОПУХОЛЬ-ИНФИЛЬТРИРУЮЩИХ В-КЛЕТОК
Петров Е.А., Малабуйок Д.М., Мокрушина Ю.А., Абрикосова В.А., Кузьмин Ю.Б., Царапаев П.В., Кушлинский Н.Е., Смирнов И.В., Терехов С.С., Габитов А.Г. 93
- 6.6. ИЗУЧЕНИЕ СОВМЕСТНОГО ДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ ИММУННЫЙ ОТВЕТ У *Drosophila melanogaster*
Полунина Ю.А., Гасца З.М., Лебедева Л.А., Шидловский Ю.В. 94
- 6.7. НК-КЛЕТКИ ПАМЯТИ АКТИВИРУЮТСЯ В ОТВЕТ НА ПЕПТИД hCMV, ПРЕДСТАВЛЕННЫЙ АУТОЛОГИЧНЫМИ КЛЕТКАМИ
Устюжанина М.О., Чудаков Д.М., Коваленко Е.И. 95

- 6.8. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ *Candida albicans* И АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ПАТТЕРН-РАСПОЗНАЮЩИХ РЕЦЕПТОРОВ В ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ
Фатеева С.И., Шевченко О.В., Богданов И.В., Финкина Е.И., Овчинникова Т.В. 96
- 6.9. РАЗЛИЧНЫЙ ЭФФЕКТ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ИНГИБИТОРОВ ГЕРМИНАЛЬНЫХ ЦЕНТРОВ НА ПРОДУКЦИЮ СПЕЦИФИЧЕСКОГО IgE И IgG1 В НИЗКОДОЗОВОЙ МОДЕЛИ АЛЛЕРГИИ, ИНДУЦИРУЕМОЙ БЕНЗО(А)ПИРЕНОМ
Чудаков Д.Б., Коновалова М.В., Рязанцев Д.Ю., Коцарева О.Д., Фаттахова Г.В. 97

СЕКЦИЯ 7

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ КЛЕТОЧНЫХ ПРОЦЕССОВ И МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

- 7.1. ВЛИЯНИЕ ТРЕХПЕТЕЛЬНОГО БЕЛКА ЧЕЛОВЕКА SLURP-2 НА ЭКСПРЕССИЮ микроРНК, РЕГУЛИРУЮЩИХ РЕЭПИТЕЛИЗАЦИЮ РАН
Горностаева Т.Я., Шлепова О.В., Шулепо М.А., Кукушкин И.Д., Кирпичников М.П., Люкманова Е.Н. 98
- 7.2. СОВМЕСТНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ИНГИБИТОРОВ EGFR И ERK С БЕЛКОМ ЧЕЛОВЕКА SLURP-1 ТОРМОЗИТ МИГРАЦИЮ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ
Кириченко А.В., Михайлова И.Н., Люкманова Е.Н., Бычков М.Л. 99
- 7.3. РОЛЬ АКТИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ ПРОТОН-УПРАВЛЯЕМЫХ КАНАЛОВ ASIC В КЛЕТКАХ ЛЕЙКЕМИИ ЧЕЛОВЕКА
Лысикова Д.В., Сударикова А.В. 100
- 7.4. ИНТЕРНАЛИЗАЦИЯ КОМПЛЕКСОВ АНТИГЕН-АНТИТЕЛО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ pH-ЗАВИСИМЫХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ GD2-СПЕЦИФИЧНЫХ АНТИТЕЛ
Макарова А.О., Свирицевская Е.В., Калиновский Д.В., Костенко В.В., Деев С.М., Холоденко Р.В. 101
- 7.5. ВЛИЯНИЕ СЕНОЛИТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА МАКРОФАГИ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ОПУХОЛЬЮ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ МЫШИ
Пухальская Т.В., Богданова Д.А., Демидов О.Н. 102
- 7.6. МАГНИТНО-ПОЛИМЕРНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ ФОТОИНДУЦИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ СО СВЕРХЭКСПРЕССИЕЙ РЕЦЕПТОРА HER2
Светлакова А.В., Коваленко В.Л., Сизиков А.А., Шипунова В.О. 103
- 7.7. МУЛЬТИОМИКСНЫЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ФЕРРОПТОЗА
Сулягин В.К., Ледаева В.С., Корженевский Д.А., Кудряшова О.М., Шохина А.Г. 104

- 7.8. РОЛЬ МЕТАЛЛОПРОТЕАЗ SpAN И SpAN10 В ДОРСО-ВЕНТРАЛЬНОМ
СКЕЙЛИНГЕ ЭМБРИОНА МОРСКОГО ЕЖА
*Тимошина П.С., Ерошкин Ф.М., Паршина Е.А., Орлов Е.Е.,
Зарайский А.Г. 105*
- 7.9. ВЛИЯНИЕ АКТИВАЦИИ МЕХАНОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ КАНАЛОВ
Piezo1 НА ОБРАЗОВАНИЕ СФЕРОИДОВ ИЗ КЛЕТОК
ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ МЕЛАНОМЫ ЧЕЛОВЕКА
Хайруллина З.М., Васильева В.Ю., Чубинский-Надеждин В.И. 106
- 7.10. БЕЛОК ЧЕЛОВЕКА SLURP-1 КАК ПРОТОТИП
ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ
МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ *in vivo*
*Шлепова О.В., Шуленко М.А., Шипунова В.О., Бычков М.Л., Деев
С.М., Куртичников М.П., Шенкарев З.О., Люкманова Е.Н. 107*

СЕКЦИЯ 8

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

- 8.1. РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ С ДОЗЗАВИСИМОЙ ДЕТЕКЦИЕЙ
УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ОСНОВЕ ДНК-
НАНОСЕНСОРОВ
Ачкасова М.А., Шкоденко Л.А. 108
- 8.2. ПОЛУЧЕНИЕ ЭКЗОСОМ, ЗАГРУЖЕННЫХ АЛЛОКОЛХИЦИНОИДОМ
С ЖИРНЫМ ХВОСТОМ
*Воденникова А.А., Костенко В.В., Ситдикова А.Р., Щегравина Е.С.,
Федоров А.Ю., Свирицевская Е.В. 109*
- 8.3. S9 CELL LINE AS A MODEL FOR INSECTISIDE CYTOTOXICITY ASSAY
Dobronos M., Cherpurnyh T., Kondrashov F. 110
- 8.4. РАЗРАБОТКА ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМЫХ АДРЕСНЫХ СИСТЕМ
ДОСТАВКИ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ К
КЛЕТКАМ-МИШЕНЯМ
*Киреева О.К., Обозина А.С., Зверева С.Д., Никитин М.П.,
Шипунова В.О. 111*
- 8.5. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ОБРАЗОВАНИЯ БИОПЛЕНОК НА
ВОДНОЙ ФАЗЕ ПРОЦЕССА ГИДРОТЕРМАЛЬНОГО ОЖИЖЕНИЯ
Клементьев С.В., Куликова Ю.В., Сироткин А.С. 112
- 8.6. ЗАМЕНА СИГНАЛЬНЫХ ПЕПТИДОВ У БЕТА-ЦЕПЕЙ
ГЛИКОПРОТЕИНОВЫХ ГОРМОНОВ ПРИВОДИТ К УВЕЛИЧЕНИЮ
ТИТРА ГЕТЕРОДИМЕРОВ ДЛЯ СТАБИЛЬНО
ТРАНСФИЦИРОВАННЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ
Колесов Д.Э., Синегубова М.В., Орлова Н.А., Воробьев И.И. 113
- 8.7. ФЛЕКСИМЕРНЫЕ НУКЛЕОЗИДЫ 8-АЗА-7-ДЕАЗАГИПОКСАНТИНА
КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СРЕДСТВА
Кондрашова Е.М., Миронов А.Ф., Елецкая Б.З., Матюгина Е.С. 115
- 8.8. СОЗДАНИЕ ФОТООТВЕРЖДАЕМЫХ СКАФФОЛДОВ ДЛЯ
РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ ПРИ КРИТИЧЕСКОМ КОСТНОМ ДЕФЕКТЕ
*Кузьяева В.И., Сочилина А.В., Гулялек Б., Сергеев И.С., Демина П.А.,
Сучков М.Ю., Акасов Р.А., Хайдуков Е.В., Генералова А.Н. 116*

- 8.9. ОПТИМИЗАЦИЯ СТАДИИ ПРЕЦИПИТАЦИИ ПРИ ЭКСТРАКЦИИ
ГЕНОМНОЙ ДНК БАКТЕРИЙ ИЗ ФЕКАЛИЙ
Курносов А.С., Глазунова Е.В., Злобовская О.А., Шипулин Г.А. 117
- 8.10. ПОИСК ОПУХОЛЬ-СПЕЦИФИЧНЫХ АНТИТЕЛ С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕКОНСТРУИРОВАННЫХ РЕПЕРТУАРОВ
В-ЛИМФОЦИТОВ
Малабуёк Д.М., Петров Е.А., Мокрушина Ю.А., Смирнов И.В.,
Терехов С.С., Габитов А.Г. 118
- 8.11. РАЗРАБОТКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОСТАВА
ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ МЕТОДОМ ИЗОТЕРМАЛЬНОЙ ПЕТЛЕВОЙ
АМПЛИФИКАЦИИ
Мартушова В.Г., Середина Т.А., Седых С.Е. 119
- 8.12. НАНОАГЕНТЫ ДЛЯ КОНТРОЛИРУЕМОЙ ДОСТАВКИ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В ЦЕЛЕВЫЕ ТКАНИ
Мочалова Е.Н. 120
- 8.13. МЕТОД LT-TIPS-NF КАК ПЛАТФОРМА ПОЛУЧЕНИЯ СКАФФОЛДОВ
ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ
Мясоедов М.С., Генералова А.Н., Социлина А.В., Простякова А.И.,
Вихров А.А. 121
- 8.14. ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН D27A/L30A И D125A НА
СВОЙСТВА АЛЛЕРГЕНА ОЛЬХИ Aln g 1
Потапов А.Е., Мельникова Д.Н., Овчинникова Т.В., Богданов И.В. ... 122
- 8.15. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ЦЕЛЯХ
СНИЖЕНИЯ ВЫБРОСОВ ЛЕТУЧИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ
ПРИ ОБРАЩЕНИИ С БИООРГАНИЧЕСКИМИ ОТХОДАМИ
Романовская К.С. 123
- 8.16. ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛИМЕРНО-
МЕТАЛЛИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ В КАЧЕСТВЕ АГЕНТОВ ДЛЯ
ФОТОТЕРМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ
Терёшина Е.Д., Черкасов В.Р., Шипунова В.О. 124
- 8.17. ЭКСПРЕССИЯ СЛИТЫХ С КРИСТАЛЛИЗУЕМЫМ ФРАГМЕНТОМ
ИММУНОГЛОБУЛИНА G1 БЕЛКОВ В КЛЕТКАХ СНО
Шайфутдинов Р.Р., Гаямова Е.А., Воробьев И.И., Орлова Н.А. 125
- 8.18. БИОСОВМЕСТИМЫЕ СТРУКТУРЫ НАПРАВЛЕННОГО ДЕЙСТВИЯ
КАК СРЕДСТВА ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ АГРЕССИВНЫХ
МЕТАСТАЗИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕЙ
Шипунова В.О. 126

СЕКЦИЯ 9

БИМЕДИЦИНСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- 9.1. СИНТЕЗ ПЛАЗМОННЫХ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА ДЛЯ
ТЕРАНОСТИКИ: ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ И ПОТЕНЦИАЛЬНОЕ
ПРИМЕНЕНИЕ
Антонова А.О., Колесникова О.А., Иванцова П.М., Шипунова В.О. .. 127

- 9.2. БЕЛКИ ПЛАЗМЫ КОСТИСТЫХ РЫБ (TELEOSTEI) КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПРОТЕОМОВ ПЛАЗМЫ ЧЕЛОВЕКА
Базарова З.М., Павлова П.А., Торопыгин И.Ю., Андреева А.М. 128
- 9.3. ДОДЕЦИЛ-СОДЕРЖАЩИЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ И ИХ АССОЦИАТЫ С СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ ДЛЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ
Бауэр И.А., Жарков Т.Д., Купрюшкин М.С., Дмитриенко Е.В. 129
- 9.4. КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК У ПАЦИЕНТОВ С СИСТЕМНЫМ СКЛЕРОЗОМ
Богатырева А.И., Кириченко Т.В., Маркина Ю.В., Толстик Т.В., Хованцева У.С., Чередниченко В.Р., Маркин А.М. 130
- 9.5. КОНЪЮГАТЫ ТЕТРАПИРРОЛОВ С НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМ ИНГИБИТОРОМ ТИРОЗИНКИНАЗЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ ДЛЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ФДТ
Бортневская Ю.С., Захаров Н.С., Ширяев Н.А., Никольская Е.Д., Карпеченко Н.Ю., Брагина Н.А., Жданова К.А. 131
- 9.6. СИНТЕЗ БИОРАЗЛАГАЕМЫХ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИМОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ И ГЛИКОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ МЕТОДОМ ПРЯМОЙ ПОЛИКОНДЕНСАЦИИ В РАСПЛАВЕ
Жадаев В.И., Завалко Ф.А., Коваленко В.Л., Светлакова А.В., Никитин М.П., Шипунова В.О. 132
- 9.7. РАЗРАБОТКА СТРАТЕГИЙ СИНТЕЗА И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ КОНЪЮГАТОВ КАТИОННЫХ МЕЗО-АРИЛПОРФИРИНОВ С НАЦЕЛИВАЮЩИМ ЛИГАНДОМ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ АГЕНТОВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ
Захаров Н.С., Бортневская Ю.С., Ширяев Н.А., Градова М.А., Карпеченко Н.Ю., Брагина Н.А., Жданова К.А. 133
- 9.8. ВЫБОР МЕТОДА ОЦЕНКИ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА У ПАЦИЕНТОВ С НЕИНФЕКЦИОННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ
Злобовская О.А., Дементьева Е.В., Курносов А.С., Лукашина М.В., Глазунова Е.В., Шипулин Г.А. 134
- 9.9. DR5 - ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ МИШЕНЬ ДЛЯ СЕНОЛИТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ГЛИОБЛАСТОМЫ
Исакова А.А., Мазур Д.В., Антипова Н.В., Гаспарян М.Э., Яголович А.В. 135
- 9.10. ТЕСТИРОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ И ТОКСИЧНОСТИ АКТИВНЫХ КАНДИДАТОВ КОМБИНАТОРНОЙ БИБЛИОТЕКИ PG1 НА МОДЕЛИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ *C. elegans*
Калганова А.И., Пития С.О., Елисеев И.Е., Смирнов И.В., Терехов С.С. 136
- 9.11. СВЯЗЬ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ XRCC1, ERCC2, TP53, MDM2 И CDKN1A С РИСКОМ РАЗВИТИЯ РАКА ЯИЧНИКА
Капранова М.А., Ломскова П.К., Хохлова С.В., Хабас Г.Н., Асатурова А.В., Каюмова Л.Н., Заварыкина Т.М. 137

- 9.12. СПЕЦИФИКА ПОЛНОТРАНСКРИПТОМНОГО ПРОФИЛЯ МИОКАРДА ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЕЛОЙ ФОРМОЙ ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ В СРАВНЕНИИ С НЕГИПЕРТРОФИЧЕСКИМИ ПАТОЛОГИЯМИ СЕРДЦА
Класс А.Л., Власов И.Н., Шадрина М.И., Сломинский П.А., Лысенко А.В., Салагаев Г.И., Филатова Е.В. 138
- 9.13. ТАРГОСОМЫ: ПОЛИМЕРНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ АДРЕСНОЙ ФОТО/ХИМИОТЕРАПИИ И ДИАГНОСТИКИ HER2-ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
Комедчикова Е.Н., Колесникова О.А., Никитин М.П., Деев С.М., Шипунова В.О. 139
- 9.14. РАЗРАБОТКА ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ МАСШТАБИРУЕМОГО СИНТЕЗА БЕЛКОВЫХ НАНОЧАСТИЦ
Коренков Е.С., Никитин М.П. 140
- 9.15. ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ХИТОЗАНА И СУКЦИНИЛ ХИТОЗАНА ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ПРИЕМЕ ОЛАНЗАПИНА
Костенко В.В., Свирицевская Е.В., Шагдарова Б.Ц. 141
- 9.16. ЭКСПРЕССИЯ HSP70 НА ПОВЕРХНОСТИ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ИХ КУЛЬТИВИРОВАНИИ В ПРИСУТСТВИИ ИЛИ В ОТСУТСТВИИ КОНТАКТНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ
Костенко В.В., Бойко А.А., Гречихина М.В., Макарова А.О., Овсянникова О.А., Свирицевская Е.В., Сапожников А.М. 142
- 9.17. КОМБИНИРОВАННАЯ НАНОРАЗМЕРНАЯ СИСТЕМА ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ НА ОСНОВЕ АМФИФИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПОЛИ-Н-ВИНИЛПИРРОЛИДОНА
Куковякина Е.В., Куликов П.П., Гаспарян М.Э., Кусков А.Н., Яголович А.В. 143
- 9.18. АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ DLG4 И HNMT В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА И В ГРУППАХ СРАВНЕНИЯ
Лукашевич М.В., Семенова Е.И., Руденок М.М., Карабанов А.В., Иллариошкин С.Н., Шадрина М.И., Алиева А.Х. 144
- 9.19. ВЛИЯНИЕ НИТРОЗИЛЬНЫХ ЖЕЛЕЗО-СЕРНЫХ КОМПЛЕКСОВ НА АКТИВНОСТЬ ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ, РАСТВОРИМОЙ ГУАНИЛАТЦИКЛАЗЫ И АДЕНИЛАТЦИКЛАЗЫ
Мазина Л.М., Новикова В.О., Покидова О.В., Конюхова А.С., Татьянаенко Л.В., Санина Н.А. 145
- 9.20. РАЗРАБОТКА ИОДСОДЕРЖАЩИХ ПРИРОДНЫХ ХЛОРИНОВ В КАЧЕСТВЕ ПРОТОТИПОВ РАДИОФАРМПРЕПАРАТОВ С РАДИОНУКЛИДАМИ ИОДА
Минаков Д.А., Суворов Н.В., Тихонов С.И., Плотнокова Е.А., Плютинская А.Д., Грин М.А. 146
- 9.21. СИНТЕЗ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ ТЕТРАПИРРОЛЬНОГО РЯДА И СОЗДАНИЕ МЕТАЛЛООРГАНИЧЕСКИХ КАРКАСОВ НА ИХ ОСНОВЕ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ФДТ
Петракова О.А., Китороагэ О.О., Крумкачева О.А., Жданова К.А., Брагина Н.А. 147

- 9.22. ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВЫХ ГЕНОВ В КЛЕТКАХ МИОМЫ
Петросян Э.Г., Мазур Д.В., Кавиладзе М.Г., Азадова Г.Я., Антипова Н.В. 148
- 9.23. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНЕРАЦИИ ВТОРЫХ ГАРМОНИК ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ТРЕХМЕРНЫХ ИЗОБРАЖЕНИЙ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ И СОСУДОВ
Портнов С.А., Шаляпин С.С., Богородский А.О., Шевченко М.А. .. 149
- 9.24. АРТЕМИЗИНИН СТИМУЛИРУЕТ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ НЕЙРОНАЛЬНЫХ КЛЕТОК *IN VITRO*
Пукаева Н.Е., Пухов С.А., Семаков А.В., Иванова Т.В., Лыткина О.А., Овчинников Р.К., Кухарский М.С. 150
- 9.25. ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ, ДЛИННЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК И РИБОСОМАЛЬНЫХ ГЕНОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СТЕПЕНЯХ ДИСПЛАЗИИ ШЕЙКИ МАТКИ
Резкина А.И., Мазур Д.В., Леваков С.А., Громова Т.А., Джафарова М.М., Мушкорова Д.Р., Антипова Н.В. 151
- 9.26. АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *Sema5a*, *Robo1*, *Vegfa* и *Mef2c* В ТКАНЯХ МОЗГА МЫШЕЙ С ХРОНИЧЕСКОЙ МОДЕЛЬЮ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА
Руденок М.М., Семенова Е.И., Лукашевич М.В., Шульская М.В., Партевян С.А., Рыболовлев И.Н., Шадрин М.И., Сломинский П.А., Алиева А.Х. 153
- 9.27. ГИБРИДНЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ИМПРИНТИРОВАННЫЕ ПОЛИМЕРЫ НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ
Седельникова А.Ю., Дмитриенко Е.В. 154
- 9.28. ЭКСПРЕССИОННЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ *LRRN3*, *MEF2C*, *SLC22A4* И *P2RY12* В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С РАННИМИ СТАДИЯМИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА
Семенова Е.И., Руденок М.М., Лукашевич М.В., Шульская М.В., Карабанов А.В., Федотова Е.Ю., Иллариошкин С.Н., Росинская А.В., Доронина О.Б., Шадрин М.И., Сломинский П.А., Алиева А.Х. 155
- 9.29. АДАПТИВНЫЕ СВОЙСТВА КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *Mycoplasma hominis*
Сукамов К.В., Побегуц О.В., Уразаева Д.Р., Авшалумов А.С., Михайлычева М.В., Бабенко В.В., Смирнов И.П., Галямину М.А., Горбачев А.Ю. 156
- 9.30. ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА КОПИЙ мтДНК У ПАЦИЕНТОВ С ОЖИРЕНИЕМ И ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА
Толстик Т.В., Маркина Ю.В., Кириченко Т.В., Богатырева А.И., Черодниченко В.Р., Маркин А.М. 157
- 9.31. СИНТЕЗ КОНЬЮГАТОВ ПОРФИРИНОВ С ИНГИБИТОРАМИ ГЕКСОКИНАЗЫ II
Усанёв А.Ю., Захаров Н.С., Жданова К.А., Брагина Н.А. 158

9.32.	ИДЕНТИФИКАЦИЯ АНТИГЕНА ОПУХОЛЬСПЕЦИФИЧНОГО АНТИТЕЛА ВЗ.4 <i>Файзуллина Э.А., Серова О.В., Мокрушина Ю.А., Смирнов И.В., Терехов С.С., Габибов А.Г.</i>	159
9.33.	РАЗРАБОТКА ВРЕТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ТАРГЕТНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ HER2 ⁺ ОПУХОЛЕЙ <i>Филимонова В.П., Прошкина Г.М., Шрамова Е.И., Деев С.М.</i>	160
9.34.	КАНДИДОЗЫ И ВОЗМОЖНЫЕ ПРОТОТИПЫ НОВЫХ АНТИМИКОТИКОВ <i>Финкина Е.И., Овчинникова Т.В.</i>	161
9.35.	ПОИСК ОПТИМАЛЬНЫХ СООТНОШЕНИЙ ВОРИНОСТАТА И ДОКСОРУБИЦИНА ДЛЯ ТЕРАПИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ <i>Хакимова Э.И., Моллаева М.Р., Яббаров Н.Г., Сокол М.Б., Чиркина М.В., Никольская Е.Д.</i>	162
9.36.	ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ АЛЛОГЕННОГО МИНЕРАЛЬНОГО КОСТНОГО КОМПОНЕНТА ПРИ ВНУТРИМЫШЕЧНОМ ВВЕДЕНИИ ЖИВОТНЫМ <i>Ханенко А.С., Писарева Е.В., Лемба И.Н., Редникина В.Е., Волова Л.Т., Власов М.Ю.</i>	163
9.37.	ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОК ИНТИМЫ АОРТЫ ЧЕЛОВЕКА <i>Хованцева У.С., Киселёва Д.Г., Чередниченко В.Р., Богатырева А.И., Толстик Т.В., Маркина Ю.В., Маркин А.М.</i>	164
9.38.	АНАЛИЗ СКОРОСТИ ТРАНСЦИТОЗА У ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ И ГИГАНТСКИХ МНОГОЯДЕРНЫХ КЛЕТОК <i>Чередниченко В.Р., Киселёва Д.Г., Хованцева У.С., Толстик Т.В., Богатырева А.И., Маркин А.М.</i>	165
9.39.	ОПТИМИЗАЦИЯ ПОСТРОЕНИЯ ПОВЕРХНОСТЕЙ И ВЫДЕЛЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНОВ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ НА ОСНОВЕ ТРЕХМЕРНЫХ ИЗОБРАЖЕНИЙ <i>Шалютин С.С., Портнов С.А., Богородский А.О., Шевченко М.А. ..</i>	166
9.40.	ПОЛИМЕРНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЕЙ: ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СВОЙСТВ ПОВЕРХНОСТИ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ <i>IN VITRO</i> И <i>IN VIVO</i> <i>Юрьева А.М., Шипунова В.О.</i>	167
	АВТОРСКИЙ КАЗАТЕЛЬ	168
	СОДЕРЖАНИЕ	175

Отпечатано на полиграфическом участке ИБХ РАН
Печать офсетная. Печ. л. 16,8. Тираж 100 экз.

© Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, 2024 г.

