

МАТЕРИАЛЫ
МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ



Физико-
химическая
биология
в год 270-летия МГУ



20-22 февраля 2025

Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова
НИИ Физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского
Факультет биоинженерии и биоинформатики

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ В ГОД 270-летия МГУ

Сборник материалов
международной научной конференции, посвященной
120-летию со дня рождения академика А. Н. Белозерского
и 90-летию со дня рождения академика В. П. Скулачёва
Москва, 20–22 февраля 2025 г.

УДК 544+57(063)
ББК 24.5+28я431
Ф50

Редколлегия:

П. В. Сергиев (отв. ред.), О. С. Птушенко (зам. отв. ред.), В. В. Птушенко,
К. Н. Айсин, Е. Н. Бескоровая, Е. П. Зюбина, Е. А. Новикова

Ф50 Физико-химическая биология в год 270-летия МГУ. Сборник материалов международной научной конференции, посвященной 120-летию со дня рождения академика А. Н. Белозерского и 90-летию со дня рождения академика В. П. Скулачёва, Москва, 20–22 февраля 2025 г. / под общ. ред. П. В. Сергиева. — Москва : Издательство Московского университета, 2025. — 172 с. — Электронное издание сетевого распространения.

ISBN 978-5-19-012229-9 (e-book)

DOI 10.55959/MSU012229-9-2025

В сборник вошли тезисы устных и стендовых докладов, представленных на конференции. Темы докладов охватывают практически все активно развивающиеся сегодня области биохимии, молекулярной биологии, биоэнергетики, биоинформатики и геронтологии — тех областей, развитие которых во многом связано с именами академиков А. Н. Белозерского и В. П. Скулачёва.

Издание адресовано научным работникам, преподавателям, студентам, обучающимся по направлениям физико-химической биологии.

УДК 544+57(063)

ББК 24.5+28я431

ISBN 978-5-19-012229-9 (e-book)

© Коллектив авторов, 2025
© НИИ Физико-химической биологии имени
А. Н. Белозерского МГУ имени М. В. Ломоносова, 2025
© Факультет биоинженерии и биоинформатики
МГУ имени М. В. Ломоносова, 2025
© Издательство Московского университета, 2025

Спонсоры конференции



Устные доклады

FROM SKULACHEV'S DREAMS TO THE VISUALIZATION OF BIOENERGETIC SUPER-MACHINES: NEW DISCOVERIES IN MITOCHONDRIAL NANOARCHITECTURE

Amunts A.^{a,b}

^a *The Max Planck Institute of Molecular Physiology, Dortmund, Germany,*

^b *University of Münster, Münster, Germany*

Mitochondrial energy conversion relies on the intricate architecture of the inner mitochondrial membrane. We report the discovery of new types of respiratory supercomplexes in ciliates and Apicomplexa-related parasites. Cryo-EM structures provide the first observations of Complex II integrated within a supercomplex, with activity assays confirming its role in complete electron transfer from succinate to molecular oxygen. This unique feature is facilitated by specific subunits. Another finding is the identification of a negative regulator at a conserved site on Complex III. We identified a protein binder at the site of the universal electron carrier cytochrome c, which locks the Rieske Iron-Sulfur Protein head, effectively inhibiting electron transfer. From an evolutionary perspective, the structure reveals a programmed +2 frameshift, offering new insights into adaptations at the level of gene expression. These findings advance our understanding of mitochondrial nanoarchitecture and its evolutionary and functional complexity.

References

1. Structural basis of mitochondrial membrane bending by the I–II–III–IV supercomplex. *Nature* 615, 934–938 (2023).
2. Structure of the II2-III2-IV2 mitochondrial supercomplex from the parasite *Perkinsus marinus*. *bioRxiv* (2024).

ИОНОФОРЫ И ПРОТОНОФОРЫ: ПЕРЕКРЕСТОК ХИМИИ И БИОЛОГИИ

Антоненко Ю.Н.

НИИ ФХБ имени А. Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1/40, электронная почта: antonen@genebee.msu.ru

Разобщители нарушают запасание энергии в энергопреобразующих мембранах клеток, а именно: внутренней мембране митохондрий, тилакоидных мембранах хлоропластов высших растений и плазматической мембране бактерий, в виде трансмембранной разности электрохимических потенциалов протонов, называемой протон-движущей силой. Разобщители привлекли к себе внимание как возможные средства против ожирения еще до открытия основного механизма их действия, а именно их протонофорной активности, т.е. способности осуществлять циклический перенос протонов через бислойную липидную мембрану, приводящий к диссипации протон-движущей силы. Протонофоры являются частным случаем ионофоров, которые способны к селективному транспорту различных ионов. Некоторые ионофоры, традиционно используемые в скотоводстве, прицеводстве и ветеринарии, например, протон-калиевый обменник салиномицин, обнаруживают противораковую активность. В последние 10-15 лет наблюдается всплеск интереса к разобщителям как перспективным соединениям для борьбы с ожирением и создания лекарств от многих болезней, в том числе противораковых, противовирусных, антибактериальных, нейро-, нефро- и кардиопротекторных препаратов. В настоящее время дизайн, синтез и изучение механизма действия новых разобщителей и ионофоров остается по-прежнему актуальной и интересной задачей. В частности, наряду с классической протонофорной активностью, в действие большинства разобщителей на синтез АТФ и перенос электронов по дыхательной цепи митохондрий вовлечены некоторые белки внутренней митохондриальной мембраны. В последние годы в нашей лаборатории проводится поиск тканеспецифичных разобщителей, действие которых проявляется в клетках одной ткани, при этом не затрагивая другие ткани.

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова.

РЕГУЛЯЦИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ПОРЫ КАК ИНСТРУМЕНТ КОРРЕКЦИИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Белослудцев К.Н.^{а,б}, Ильзоркина А.И.^{а,б}, Серов Д.А.^в, Дубинин М.В.^а, Карагяур М.Н.^г, Белослудцева Н.В.^{а,б}

^а Марийский государственный университет, Россия, 424000, Йошкар-Ола, пл. Ленина, д. 1, электронная почта: bekonik@gmail.com

^б Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Россия, 142290, Пущино, Институтская, 3,

^в ФИЦ «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук», 119991, Москва, ул. Вавилова, д. 38.

^г Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,

Сахарный диабет – хроническое метаболическое заболевание, связанное с нарушением секреции инсулина (диабет 1 типа) и/или инсулинорезистентностью органов и тканей организма человека и животных (диабет 2 типа), что приводит к развитию гипергликемии, гиперлипидемии и прочим нарушениям обмена веществ. Одной из основных внутриклеточных мишеней данного метаболического заболевания являются митохондрии. За последние годы, в том числе при участии нашего коллектива, было установлено, что возникновению и развитию сахарного диабета способствуют снижение эффективности работы системы окислительного фосфорилирования, окислительный стресс, дисрегуляция Ca^{2+} гомеостаза и др.¹. Фокус наших исследований был направлен на изучение того, как при сахарном диабете и сопутствующих ему осложнениях изменяется функционирование такого патологического процесса как митохондриальная пора. Исходя из полученных результатов установлено, что фармакологическая и генетическая модуляция митохондриальной поры способствует предотвращению развития митохондриальной дисфункции при сахарном диабете в экспериментах *in vitro* и *in vivo*^{2,3}.

Литература:

1. Belosludtsev K. N., et al., Int. J. Mol. Sci. 2020, 21, 6559. 48.
2. Belosludtsev K.N., et al., Int. J. Mol. Sci. 2021, 22, 9524.
3. Belosludtseva N.V., et al., Biomolecules 2024, 14, 1159.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 20-15-00120.

ПЕРИФЕРИЧЕСКИЕ КИНАЗЫ МИТОХОНДРИЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ЧЕЛОВЕКА И ДОЛГОЖИВУЩЕГО ГРЫЗУНА *HETEROSERPHALUS GLABER* ПРИ СТАРЕНИИ

Высоких М.Ю.^{а,б,в*}, Аверина О.А.^а, Виговский М.А.^г, Марей М.В.^б, Григорьева О.А.^г, Филиппов В.В.^г,
Бородай Я.Р.^г, Вепхвадзе Т.Ф.^в, Курочкина Н.С.^в, Манухова Л.А.^б, Ефименко А.Ю.^г, Попов Д.В.^{в,д},

Скулачев В.П.^а

^а Научно-Исследовательский Институт Физико-Химической Биологии им. А.Н.Белозерского

Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия; *e-mail: mikhail.vyssokikh@gmail.com

^б Национальный Медицинский Исследовательский Центр Акушерства, Гинекологии и Перинатологии
имени академика В.И. Кулакова, г. Москва, Россия;

^в Институт Медико-биологических Проблем РАН, г. Москва, Россия;

^г Медицинский Научно-Образовательный Центр Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия;

^д Факультет Фундаментальной Медицины Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия

В основе патофизиологии состояния скелетных мышц (СМ) лежит генетически запрограммированный сдвиг баланса свободных радикалов (СР), приводящий к энергодефицитным состояниям, обусловленным митохондриальной (МХ) дисфункцией, а также к индукции каскада реакций, приводящего к гибели клеток (1, 2). Нарушения пролиферации и дифференцировки в СМ на фоне энергодефицитного состояния приводят к изменению клеточного состава стареющей мышцы и далее к саркопении и мышечной слабости. Ключевую роль в поддержке баланса СР играет мембранный потенциал ($\Delta\psi$), величина которого коррелирует как со скоростью синтеза АТФ, так и со скоростью продукции СР (3, 4). Одним из факторов регуляции осцилляций $\Delta\psi$ является стабильность МХ-микрокомпартамента периферических киназ (ММПК), в частности гексо- и креатинкиназы. Связывание и активация киназ на МХ приводят к стимуляции дыхания, снижению $\Delta\psi$, продукции H_2O_2 и повреждающего действия СР. Диссоциация киназ и разрушение ММПК дает обратный эффект и инициирует каскад событий, приводящий к энергодефицитному состоянию СМ (5, 6).

Целью работы было сравнить возрастные изменения ММПК в образцах СМ человека и долгоживущего голого землекопа.

Состояние ММПК анализировали в биоптатах 4-хглавой мышцы бедра пациентов (N=81) с первичным артрозом крупных суставов и здоровых добровольцев (N=11), а также в СМ *H. glaber*. Исследовали возрастные особенности мягкой деполяризации, регулирующей уровень продукции СР и окислительных повреждений в МХ СМ в зависимости от сохранности ММПК. Методами спектрофотометрии, полярографии и тонкослойной хроматографии было показано, что снижение продукции H_2O_2 при добавлении субстратов киназ у пациентов 28-45 лет не отличаются от группы сравнения (25-43 г). При увеличении возраста пациентов (группы 45-65 и 65-85 лет) снижается содержание и активность ММПК, скорость дыхания и подавление H_2O_2 при активации этих киназ. Также выявлено возраст-зависимое повышение маркеров повреждения мембран: монолизокардиолипина и малонового диальдегида. Указанные возрастные изменения были выражены слабо в СМ голых землекопов, что тесно коррелировало со степенью сохранности ММПК в митохондриях.

Выводы: У человека, в отличие от голых землекопов, старение сопровождается разрушением ММПК и дисрегуляцией $\Delta\psi$, что не позволяет компенсаторным механизмам нивелировать нарушение баланса активных форм кислорода.

Литература:

1. Korshunov et al. FEBS Lett. 416, 15–18 (1997);
2. Vyssokikh et al, Mol Cell Biochem. 2004 Jan-Feb;256-257(1-2):117-26;
3. Vyssokikh et al, Proc Natl Acad Sci USA 2020 Mar 24;117(12):6491-6501.
4. Vyssokikh et al., Biochemistry (Mosc). 2024 Feb;89(2):299-312.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проекты № 22-14-00160, 21-15-00405 и государственного задания МНОЦ МГУ имени М.В.Ломоносова.

РОЛЬ КЛЕТОЧНЫХ БЕЛКОВ В РЕПЛИКАЦИИ ВИЧ-1

Готтих М.Б.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского, 119992, Москва, Россия

Использование комбинированной антиретровирусной терапии (АРТ) при лечении ВИЧ-инфекции привело за последние три десятилетия к значительному снижению заболеваемости и смертности во всем мире. Однако, существует серьезная проблема возникновения лекарственной устойчивости к существующим антиретровирусным препаратам, которая может существенно снизить эффективность применения этой терапии. Одним из перспективных способов решения этой проблемы является создание препаратов, способных нарушить взаимодействие вирусных белков с клеточными белками, необходимыми для успешной репликации вируса. Мы исследовали процесс интеграции вирусной кДНК в геном инфицированной клетки, который осуществляется вирусным ферментом интегразой. Интеграция приводит к образованию повреждений в клеточной ДНК, которые необходимо репарировать. Мы установили, что постинтеграционная репарация ДНК инициируется в результате образования комплекса интегразы с клеточным белком Ku, который привлекает к месту повреждения каталитическую субъединицу ДНК-зависимой протеинкиназы (DNA-PK) и серин/треониновую протеинкиназу ATM – ферменты из систем репарации двуцепочечных разрывов в ДНК. Изучение процесса постинтеграционной репарации позволило нам идентифицировать клеточные белки из систем репарации двуцепочечных разрывов и эксцизионной репарации оснований в ДНК, а также факторы ремоделирования хроматина, факторы транскрипции и компоненты систем убиквитинирования белков. Предложена схема процесса постинтеграционной репарации, которая инициируется при связывании интегразы и белка Ku. Изучена структура сайта связывания этих белков и предложены ингибиторы этого связывания. Соединение-лидер способно подавлять постинтеграционную репарацию и репликацию вируса в микромолярных концентрациях. Это позволяет говорить о новом подходе к подавлению репликации ВИЧ-1 на стадии постинтеграционной репарации путем нарушения формирования комплекса вирусного и клеточного белков.

КОМБИНАТОРНАЯ ХИМИЯ И БИОЛОГИЯ В РЕШЕНИИ ПРОБЛЕМ БИОМЕДИЦИНЫ

Габибов А.Г.

*Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова Российской академии наук, ИБХ РАН,
Российская Федерация, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10, office@ibch.ru, www.ibch.ru*

Биомедицина XXI века призвана решать проблему борьбы с онкологическими, аутоиммунными и инфекционными заболеваниями. Во многом успех зависит от умения работать с большими данными, как в области биоинформатики, так и в области совершенствования скрининговых технологий. Различные микрофлюидные платформы позволяют обеспечивать скрининг гигантских массивов индивидуальных клонов и обеспечивать исследование функциональности на уровне единичных клеток и молекул. Данная технология была нами применена для анализа микробиоты ротовой полости диких животных с целью поиска продуцентов антибиотиков. Была показана принципиальная возможность выделения регуляторных элементов, ферментативных кластеров, ответственных за антибиотиковую резистентность. Применение микрофлюидных технологий и подходов комбинаторной химии и биологии позволили разработать новые иммунобиологические препараты на основе антител и Т-клеток с химерными антигенными рецепторами (CAR-T), необходимых для борьбы с онкологией.

Предложена технология получения индивидуальных терапевтических антител из крови переболевших или вакцинированных индивидов. Получены нейтрализующие антитела высокой эффективности к SARS-CoV-2, получена их трехмерная структура и на ген-модифицированных мышах со 100% летальностью при заражении вирусом показана протективная эффективность. Методами машинного обучения и QM/MM получены новые эффективные биокатализаторы на основе ферментов и антител.

СОВРЕМЕННЫЕ МРНК-ТЕХНОЛОГИИ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

Дмитриев С.Е.^{а,б}

^а НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского и

*^б Факультет биоинженерии и биоинформатики, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119234 Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40,
электронная почта: sergey.dmitriev@belozersky.msu.ru*

Беспрецедентный коммерческий успех мРНК-вакцин во время пандемии COVID-19 привёл к резкому подъёму интереса к мРНК-технологиям и к их проникновению во многие сферы биологии и медицины. Уже сейчас эти препараты активно применяются для профилактики инфекционных заболеваний, иммунотерапии рака, белок-заместительной терапии, клеточного репрограммирования, редактирования генома и других приложений *ex vivo* и *in vivo*. Безусловные преимущества платформ на основе мРНК – чётко определённый состав, относительная дешевизна и простота производства, а также отсутствие риска интеграции вектора в геном. В области фундаментальных исследований эти технологии можно использовать для изучения пост-транскрипционной регуляции экспрессии генов и быстрых событий при ответе клетки на стресс, для анализа молекулярных механизмов действия низкомолекулярных ингибиторов и других явлений.

В докладе будут изложены базовые принципы, лежащие в основе этих технологий, включая устройство мРНК-векторов и молекулярных систем доставки, и ряд инновационных подходов к конструированию современных эффективных и безопасных мРНК-платформ. Будут также представлены результаты, полученные нашей научной группой совместно с коллегами из других организаций в области разработки таких платформ, показаны примеры использования мРНК-технологий в молекулярной и клеточной биологии и рассмотрены перспективы их введения в клиническую практику.

Работа группы поддержана финансированием в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова.

ПАПАИН-ПОДОБНЫЕ ЦИСТЕИНОВЫЕ ПРОТЕИНАЗЫ: ИЗВЕСТНЫЕ СТРУКТУРЫ И НОВЫЕ МЕХАНИЗМЫ

Замятнин А.А. (мл)

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 73.
Электронная почта: zamyat@belozersky.msu.ru*

Папаин-подобные цистеиновые протеиназы (цистеиновые катепсины, С1А-протеиназы) осуществляют низкоспецифичный гидролиз белков в кислых условиях в лизосомах и вакуолях. Кроме того, известно, что эти ферменты выполняют ряд специфических функций в других компартментах, а также вне клеток при физиологических рН. Для изучения рН-зависимой специфичности С1А эндопептидаз мы исходно использовали протеиназу пшеницы Тритикаин- α и показали, что этот фермент имеет два рН-зависимых режима работы: низкоспецифичный в кислых условиях и высокоспецифичный в нейтральной среде. Кристаллическая структура Тритикаина- α и сайт-направленный мутагенез показали, что специфичность фермента определяется двумя отрицательно заряженными или протонированными (в зависимости от рН) Glu191 и Asp289, фланкирующими сайт связывания S_1 . Катепсин L человека с аналогичной структурой сайта S_1 демонстрировал сходные два рН-зависимых режима работы. Основываясь на экспериментальных данных и данных биоинформатического анализа известных структур С1А протеиназ, был сделан вывод о том, что полярные остатки в сайте S_1 определяют специфичность ферментов в зависимости от рН, который варьирует в различных внутриклеточных компартментах или во внеклеточном пространстве. В силу огромного прикладного значения для биотехнологии и биомедицины как самих С1А эндопептидаз, так и их ингибиторов, полученные в настоящей работе данные о молекулярных механизмах, определяющих режимы работы эндопептидаз, открывают новые перспективы для целевого использования ферментов, создания новых селективных ингибиторов, а также для решения широкого спектра других задач синтетической биологии.

ЦИНК-ЗАВИСИМАЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИЯ ПРИ ГЛАУКОМЕ: ОТ ПАЦИЕНТА К МЕХАНИЗМУ

Зерний Е.Ю.

*НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: zerni@belozersky.msu.ru*

Дегенеративные заболевания сетчатки представляют собой острую проблему современной офтальмологии, поскольку повреждение нейронов этой ткани приводит к необратимой и на сегодняшний день неизлечимой потере зрения. Центральное место среди таких заболеваний занимает глаукома – оптическая нейропатия, отличающаяся многофакторным патогенезом и отсутствием специфической терапии. Прорыв в понимании путей развития глаукомы связан с идентификацией мобильного цинка как потенциального медиатора дегенерации сетчатки и зрительного нерва. Эти наблюдения особенно актуальны в свете недавнего обнаружения сигнальной функции цинка в цитоплазме и межклеточном пространстве и ее тесной взаимосвязи с классической кальциевой сигнализацией. В работе представлены результаты комплексного исследования механизмов глаукомы с применением мультиомиксного анализа образцов пациентов, животных и клеточных моделей, а также структурных подходов, включая инструменты на основе алгоритмов машинного обучения и рентгеноструктурный анализ, которые позволили идентифицировать новые цинк-зависимые мишени при этом заболевании. Впервые показано, что секретируемый цинк резко подавляет нейротропную активность в сетчатке путем специфического обратимого ингибирования взаимодействия между соответствующими сигнальными факторами и рецепторами клеточной поверхности. Обнаруженный механизм может быть общим для широкого спектра нейродегенеративных и нейроофтальмологических заболеваний и стать мишенью для различных вариантов лечения, в том числе генной терапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проекты 21-15-00123, 24-15-00171.

РАЦИОНАЛЬНЫЙ ДИЗАЙН НЕТРАНСЛИРУЕМЫХ ОБЛАСТЕЙ мРНК С ПОМОЩЬЮ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ

Зинкевич А.О.^а, Аристова Е.О.^а, Пензар Д.Д.^б, Кулаковский И.В.^б

^а Факультет биоинженерии и биоинформатики, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,

^б Институт белка РАН, Россия, 142290, ул. Институтская, д. 4.
электронная почта: arsenii.z.work+skbz@gmail.com

Нетранслируемые области (НТО) мРНК вносят значительный вклад в пост-транскрипционную регуляцию экспрессии генов. Конкретные участки или структурные мотивы в НТО могут влиять на эффективность трансляции и стабильность мРНК¹. При этом, для разработки мРНК-вакцин необходимы НТО, обеспечивающие высокую стабильность и уровень экспрессии целевого белка². К несчастью, в зависимости от конкретного белка, такие высокоактивные мРНК могут оказывать токсический эффект в нецелевых тканях³. Решением этой проблемы могут стать НТО, обеспечивающие не просто универсально высокую, а тканеспецифичную экспрессию целевого белка. Таким образом, рациональный компьютерный дизайн таких НТО является интересной теоретической и важной практической задачей.

В сотрудничестве с лабораторией Хани Гударзи Калифорнийского университета в Сан-Франциско мы провели компьютерный анализ результатов высокопроизводительных параллельных репортерных экспериментов (ВПРЭ) по контролю влияния участков 5' и 3' НТО мРНК на экспрессию репортерного белка, в котором была измерена регуляторная активность десятков тысяч 5' и 3' НТО в шести клеточных типах. С использованием данных этого эксперимента мы разработали PARADE (Prediction And RAtional DEdesign of mRNA UTRs) – вычислительную платформу для проектирования НТО мРНК с высокой активностью и стабильностью, и обеспечивающих специфичную экспрессию целевого белка в заданных типах клеток⁴.

С помощью PARADE было *de novo* сгенерировано несколько миллионов последовательностей нетранслируемых областей мРНК, из которых были протестированы 15 800 последовательностей в пяти клеточных линиях. Были найдены последовательности, которые продемонстрировали более высокую специфичность и активность по сравнению с используемыми в существующих методах РНК-терапии. На финальном этапе работы в лаборатории проф. Гударзи была проверена тканеспецифичность активности сгенерированных НТО и продемонстрирована терапевтическая эффективность мРНК с НТО, созданной PARADE, на мышинных моделях.

В совокупности мы полагаем, что PARADE можно считать отправной точкой для создания более безопасных, точных и стабильных мРНК-вакцин с оптимизированными последовательностями 5' и 3' НТО.

Мы благодарим лабораторию Хани Гударзи Калифорнийского университета в Сан-Франциско и сотрудников лаборатории (Матвей Хорошкин, Шон Ли, Табеа Миттман, Хассан Юзефи) за предоставленные экспериментальные данные.

Литература:

1. Floor, S. N. & Doudna, J. A. *Elife*. 2016. **5**. doi: 10.7554/eLife.10921
2. Rohner, E., et al., *Nat. Biotechnol.* 2022, **40**, 1586–1600. doi: 10.1038/s41587-022-01491-z
3. Metkar, M., et al., *Nat. Rev. Drug Discov.* 2024, **23**, 67-83. doi: 10.1038/s41573-023-00827-x
4. Khoroshkin M., et al., *bioRxiv*, 2024.12.31.630783. doi: 10.1101/2024.12.31.630783

Работа выполнена при финансовой поддержке Некоммерческого Фонда развития науки и образования «Интеллект».

КОМПОНЕНТЫ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ КОММУНИКАЦИИ: ВЕЗИКУЛЫ, МИТОХОНДРИИ И КЛЕТОЧНЫЕ ФРАГМЕНТЫ

Зоров Д.Б.^{а,б}, Зорова Л.Д.^{а,б}, Бабенко В.А.^{а,б}, Зоров С.Д.^а, Певзнер И.Б.^{а,б}, Семенович Д.С.^{а,б}, Попков В.А.^{а,б}, Плотников Е.Ю.^{а,б}, Силачев Д.Н.^{а,б}

^а МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: zorov@belozersky.msu.ru

^б ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава РФ, 117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4

Межклеточная коммуникация является важным компонентом взаимодействия одноклеточных и многоклеточных организмов, способствуя синхронизации действий и объединению и разобщению функций. Доказанным является язык межклеточного взаимодействия через отправку химических сигналов бедствия или помощи, направленных на выживание, репарацию или гибель клеток. Существует два пути передачи сигналов от донорской клетки к клетке-акцептору, один из которых (кажущийся малорациональным) сводится к массовому выбросу во внеклеточную среду сигнала (например, ионов), который в равной степени получает все окружение, а другой (потенциально более рациональный) состоит в упаковывании сигнала в биологические структуры, обеспечивающие его защиту от деградации и придающие ему специфический адрес доставки. Известен перенос митохондрий по клеточным выростам (нанотрубочкам) от стволовой к дифференцированной клетке, сопряженный с изменением фенотипа донора. Сегодня отмечается высокий интерес к межклеточной сигнализации путем доставки экстраклеточных везикул, характеризующихся высокой гетерогенностью размеров и содержимого, при этом возникло целое направление трансплантации митохондрий как инструмента клеточной терапии. Показано, что везикулы содержат митохондриальные компоненты, однако полностью функциональных митохондрий в них обнаружено не было. Кроме передачи везикул и/или митохондрий, в клеточной культуре можно наблюдать перенос от клеток-доноров к клеткам-акцепторам целых клеточных фрагментов с микроядрами или без ядер, но содержащих функциональные митохондрии. В работе обсуждаются вариации и механизмы межклеточного переноса митохондрий.

Поддержано государственным заданием Минздрава РФ 124013000594-1 и грантом РФФИ, проект 25-24-00183.

КОНТЕКСТНО-ЗАВИСИМЫЙ НЕЛИНЕЙНЫЙ ФИЛЬТР НА ОСНОВЕ СЕТИ КОЛМОГорова-АРНОЛЬДА ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ СЛАБЫХ СИГНАЛОВ НА ИЗОБРАЖЕНИЯХ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ

Калайдзидис Я.Л.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: yann@genebee.msu.ru

Низкое отношение сигнал-шум является типичной проблемой флуоресцентной микроскопии, особенно в приложении к микроскопии живых образцов, где формирование активных форм кислорода приводит к фототоксическим эффектам. Применение линейных фильтров позволяет увеличить отношение сигнал-шум и визуализировать слабые сигналы, но приводит к деградации пространственного разрешения микроскопии. Быстрое развитие сверточных нейронных сетей в последние годы привело к появлению адаптивных фильтров вида N2V (Noise to Void)^{1,2}, с нелинейностью, настраиваемой на контекст фильтруемого изображения, что позволяет увеличить отношение сигнал-шум без деградации разрешения микроскопии. В основе таких фильтров обычно находится архитектура UNet³. К недостаткам N2V следует отнести большое время обучения, что является следствием большого количества параметров (~350 000) и проблем формирования апертуры «слепого пятна» в многослойной сверточной сети⁴. Применение сети Колмогорова-Арнольда⁵ позволяет эффективно реализовать апертуру «слепого пятна» и сократить количество параметров сети на порядок с уменьшением времени обучения «с нуля» до ~5 мин. Анализ применения предложенного метода шумоподавления к флуоресцентным изображениям показал его высокую эффективность.

Литература

1. Krull A., et al. in 2019 IEEE/CVF Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR), 2019, 2124-2132.

2. Krull A., et al. *Frontiers in Computer Science*, 2020, 2,5
3. Ronneberger O., et al. in *International Conference on Medical image computing and computer-assisted intervention*, 2015, 234-241
4. Laine S., et al., in *Neural Information Processing Systems*, 2019, 6968–6978.
5. Liu, Z., et al, 2024, arXiv:2404.19756.

ВИРУСЫ РАСТЕНИЙ – НЕОЖИДААННЫЙ ПОВОРОТ В ИССЛЕДОВАНИЯХ

Карпова О.В.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: karповаov@ty.msu.ru

Андрей Николаевич Белозерский основал кафедру вирусологии в 1962 году, возглавляя одновременно кафедру биохимии растений. Может быть поэтому одним из основных научных направлений кафедры стало изучение вирусов растений. А Иосиф Григорьевич Атабеков, затем возглавивший кафедру, создал и возглавил всемирно известную школу молекулярной биологии вирусов растений. До начала 21 века изучение вирусов растений имело в основном фундаментальное значение, но затем ситуация кардинально изменилась: безопасные для млекопитающих и обладающие всеми уникальными свойствами вирусных частиц вирусы растений стали великолепным инструментом для создания современных биотехнологий.

На кафедре разработана уникальная технология получения структурно модифицированных сферических частиц (СЧ) из вирусов растений, которые одновременно играют роль платформы с высокими адсорбционными свойствами для презентации функционально активных веществ (рекомбинантных антигенов и др.) и эффективного адъюванта¹. СЧ, декорированные рекомбинантными антигенами, позволяют смоделировать безопасную вирусную частицу, способную заменить аттенуированные вирионы возбудителя, которые сейчас используются в препаратах большинства вакцин. Разработаны и созданы вакцинные кандидаты против ряда инфекционных заболеваний человека и животных, которые находятся на разных этапах испытаний²⁻³. Показана возможность доставки противоопухолевых препаратов в клетки с помощью СЧ. Мы рассмотрим ряд примеров таких работ.

Литература

1. Atabekov., et al., *J of Gen Virol* 2012 92, 453–456. DOI: 10.1099/vir.0.024356-0
2. Kovalenko., et al., *Front Microbiol* 2022 13, 845316. DOI: 10.3389/fmicb.2022.845316.
3. Granovskiy., et al., *Front Microbiol* 2022, 13 , DOI:10.3389/fmicb.2022.1003969.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-14-00032.

ЭГОИСТИЧНЫЕ МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ДНК В КЛЕТКАХ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Кашко Н.Д., Кнорре Д.А.

НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1-40, электронная почта: knorre@belozersky.msu.ru

Митохондриальные ДНК (мтДНК) считают “эгоистичными”, если они не приносят пользы клетке и при этом вытесняют мтДНК дикого типа. Предполагается, что в клетке работают механизмы препятствующие появлению и распространению таких вариантов мтДНК. В своей работе мы попытались оценить силу внутриклеточного отбора, действующего на мутантные варианты мтДНК с обширными делециями в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. С помощью высокопроизводительного секвенирования и количественного ПЦР мы оценили последовательности и число копий мутантных мтДНК для 22 штаммов дрожжей. Мы также определили способность этих мтДНК вытеснять мтДНК дикого типа в состояние гетероплазмии. При этом было обнаружено, что даже избыток мутантных мтДНК не влияет на фенотип клетки, если в ней содержится достаточно мтДНК дикого типа. Все это позволило оценить относительную внутриклеточную приспособленность для каждого из 22 вариантов мтДНК: насколько этот вариант мтДНК увеличивает свою частоту относительно варианта дикого типа каждый

клеточный цикл. Полученные значения оказались в диапазоне от единицы (нейтральные мутации) до 1,8 (эгоистичные варианты мтДНК). Наши результаты предполагают, что в клеточных линиях дрожжей количество и разнообразие вариантов мутантных вариантов мтДНК определяется балансом внутриклеточного отбора, способствующего накоплению мутантных вариантов в клетках, и отбором на уровне целых клеток, выбраковывающем мутантные варианты вместе с клетками.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 22-14-00108.

ГЕРОПРОТЕКТОРНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ SkQ1 – ЧТО МЫ ЗНАЕМ 20 ЛЕТ СПУСТЯ

Колосова Н.Г., Кожевникова О.С., Муралёва Н.А., Телегина Д.В., Стефанова Н.А., Фурсова А.Ж.

*Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН),
630090, Новосибирск, Россия; kolosova@bionet.nsc.ru*

Согласно концепции В.П.Скулачева, старение можно рассматривать как частный случай запрограммированной смерти организма – феноптоза. Подавлять как острый феноптоз, так и хронический – старение – способен митохондриальный антиоксидант SkQ1, эффекты которого авторы связывают с подавлением «медленного отравления организма активными формами кислорода, вырабатываемыми митохондриями». Наши исследования, начатые 20 лет назад, когда стартовал проект «Практическое применение ионов Скулачева», показали, что SkQ1 особенно эффективно подавляет программу преждевременного старения крыс OXYS, которое проявляется ранним развитием комплекса возраст-зависимых заболеваний. У крыс OXYS уже в молодом возрасте развиваются катаракта, ретинопатия, аналогичная возрастной макулярной дегенерации у людей, остеопороз, саркопения, гипертрофическая кардиомиопатия и ускоренное старение мозга с характерными для болезни Альцгеймера признаками. Преждевременное старение крыс OXYS связано с дисфункцией митохондрий – снижением их удельного количества, нарушением митохондриальной динамики, но при этом прямых ассоциаций с окислительным стрессом не выявлено. Тем не менее SkQ1 способен предупреждать и/или подавлять развитие всех проявлений преждевременного старения крыс OXYS. Его эффекты обусловлены воздействием на активность многих сигнальных путей и процессов, в том числе редокс-зависимых, но прежде всего – с восстановлением структурно-функциональных параметров митохондрий. Благодаря исследованиям на крысах OXYS был создан первый и пока единственный препарат на основе SkQ1 – глазные капли Визомитин. Применение SkQ1 может стать перспективной стратегией в профилактике преждевременного старения у предрасположенных к нему людей. В то же время нами выявлен ряд эффектов длительного приема SkQ1, указывающих на то, что мы еще далеки от ответа на вопрос о том, в каких дозах и с какого возраста целесообразно назначать SkQ1 для профилактики «здорового», или физиологического старения.

Литература

1. Skulachev, Biochemistry (Mosc). 2012, 7, 689-706.
2. Kolosova, et al., Biochemistry (Mosc). 2022, 12, 1552-1562.

ТРАНСЛЯЦИЯ НА РИБОСОМАХ: РЕДКИЕ СОБЫТИЯ

Конева А.Л.^{а,б,в}, Виноградова Д.С.^а, Полесскова Е.В.^{а,б}

^а *Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»,
Россия, 188300, Гатчина, мкр. Орлова Роща, д.1
электронная почта: Koneva_AL@pnpi.nrcki.ru*

^б *Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Россия, 195251, Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29*

^в *Национальный Исследовательский Центр «Курчатовский Институт», Россия, Москва, 123098, пл. Академика Курчатова, 1.*

**e-mail: Koneva_AL@pnpi.nrcki.ru, Polesskova_EV@pnpi.nrcki.ru*

Биосинтез белка на рибосомах является предметом исследований на протяжении нескольких десятков лет. Наибольшего прогресса удалось достичь, объединяя данные структурных (криоЭМ, рентгеноструктурный анализ) и функциональных исследований. На настоящий момент достаточно детально известны базовые молекулярные механизмы основных этапов трансляции. Однако иссле-

дования отдельных, редких и нетипичных событий в регуляции инициации и элонгации трансляции, при встраивании неканонических аминокислот и нелинейной трансляции выявляют все новые, чрезвычайно элегантные и совершенные механизмы, реализующиеся на базе белоксинтезирующей системы. Результаты таких исследований будут рассмотрены в докладе.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФ, проекты 22-14-000278, 23-74-10088.

М6А-МЕТИЛОМ: ЗНАЧЕНИЕ И ВОЗМОЖНОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Костюшев Д.С.^{а,б}, Пономарева Н.И.^а, Володин В.В.^{а,в}, Гоптарь И.А.^а, Баюрова Е.О.^г, Житкевич А.С.^г, Брезгин С.А.^а, Лукашев А.Н.^а, Гордейчук И.В.^г, Чуланов В.П.^а, Костюшева А.П.^а

^а Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Россия, 119048, Москва, Трубецкая, д. 8 с.2,

^б Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,

^в ИМБ имени В.А. Энгельгардта РАН, Россия, 119991, Москва, Вавилова, 32

^г Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова, Россия, 142782, Москва, поселок Института Полиомиелита, вл. 8 к1
электронная почта: dkostushev@gmail.com, kostyusheva_ap@mail.ru

М6А-метилом — совокупность специализированных биохимических меток в молекулах РНК, которые определяют и регулируют их основные свойства, такие как синтез кодируемых белков, взаимодействие с внутриклеточными факторами, локализацию и др.¹ Высокопроизводительное секвенирование позволяет анализировать м6А-модификации в РНК, что открывает новые возможности в определении фундаментальных механизмов регуляции внутриклеточных процессов, в том числе при патологических состояниях, таких как онкотрансформация клеток, вирусные инфекции и др.² Вместе с этим, показана возможность применения м6А меток в качестве прогностического и диагностического биомаркера для оценки рисков и исходов, ранней диагностики и подбора оптимального лечения пациентов с различными заболеваниями³. В рамках проведенного исследования у пациентов с хроническим гепатитом В и В+D и разными стадиями болезни печени определены потенциальные прогностические м6А-метки, которые могут влиять на развитие гепатоцеллюлярной карциномы и участвовать в дисрегуляции внутриклеточного противовирусного ответа. В ходе работы впервые были определены сайты м6А-метилирования в РНК вирусов гепатита В и D, изучены особенности метилома вирусов на разных стадиях болезни печени. С использованием инструментов сайт-направленного внесения м6А меток в РНК вирусов и человека, впервые удалось экспериментально продемонстрировать влияние м6А-меток на усиление онкогенных свойств опухолевых клеток человека, регуляцию внутриклеточного противовирусного ответа, а также репликацию вирусов гепатита В и D. Рассмотрены перспективы применения м6А-эпитранскриптомики в молекулярной диагностике инфекционных и онкологических заболеваний.

Литература

1. Kostyusheva A, et al. Emerg Microbes Infect. 2021, 10:2264-2275.
2. Karandashov I, et al. Viruses. 2024, 16:601.
3. Wu, Xiao, et al. Aging. 2021, 13: 10034.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 22-75-10032.

Благодарности: программа стратегического академического лидерства «Приоритет 2030» (Сеченовский Университет).

БИОИНФОРМАТИКА НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ АКТИВНОСТЬ ГЕНОВ: ОТ ПАТТЕРНОВ ДНК-БЕЛКОВЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ К УЛУЧШЕНИЮ РНК-ВАКЦИН

Кулаковский И.В.^{а,б,в}

^а Институт белка РАН, Россия, 142290, Пущино, электронная почта: ivan.kulakovskiy@gmail.com

^б Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия, 119991, Москва,

^в Институт фундаментальной медицины и биологии Казанского Федерального Университета, Россия, 420008, Казань.

Основную долю генома у высших эукариот составляют некодирующие участки, которые не содержат прямой информации о последовательностях белков. Например, в геноме человека, белок-кодирующие районы составляют не более 1-2% от полной длины генома. В свою очередь, некодирующие районы могут являться регуляторными, то есть определять активность генов в различных типах клеток, в различных условиях и на различных уровнях реализации генетической информации: от транскрипции мРНК до активного белка. На уровне транскрипции активность регуляторных районов, промоторов и энхансеров, зависит от присутствия коротких нуклеотидных паттернов, узнаваемых регуляторными белками – факторами транскрипции¹. Современные экспериментальные данные позволяют изучать регуляторную грамматику как «снизу вверх» – традиционными методами биоинформатики для определения индивидуальных участков связывания факторов транскрипции по высокопроизводительным экспериментальным данным, – так и «сверху вниз» – методами машинного обучения для предсказания активности регуляторных районов в целом^{2,3}. Развитие и синергия этих подходов позволяет искусственно проектировать новые регуляторные последовательности с заданными свойствами не только на уровне транскрипции, но и на пост-транскрипционном уровне, что имеет критическое значения для решения практических задач синтетической биологии, включая генную терапию и оптимизацию РНК-вакцин.

Литература

1. Vorontsov I.E., et al., *Nucleic Acids Res.* 2024, 52(D1), D154-D163.
2. Rafi A.M., et al., *Nature Biotech.*, 2024, doi:10.1038/s41587-024-02414-w.
3. Agarwal. V., et al., *Nature* 2025, doi:10.1038/s41586-024-08430-9.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 20-74-10075, и гранта Министерства науки и высшего образования РФ, проект 075-15-2021-601.

КАК БАКТЕРИИ УЗНАЮТ ЧУЖУЮ ДНК И ЧТО ПРОИСХОДИТ ДАЛЬШЕ?

Кульбачинский А.В.

Институт биологии гена Российской академии наук, улица Вавилова, 34/5, 119334 Москва

Прокариоты обладают множеством защитных систем, активирующихся при проникновении в клетку чужеродных генетических элементов — плазмид и вирусов. Иммунные системы действуют на разных стадиях инфекции, напрямую разрушая чужеродную ДНК, нарушая репликацию и экспрессию чужих геномов, либо вызывая гибель зараженной клетки. Однако механизмы узнавания патогенов при активации защитных систем в ходе инфекции в большинстве случаев остаются неизвестными. В докладе обсуждаются основные принципы узнавания чужой ДНК защитными системами разных классов, в том числе, белками-Аргонавтами. В отличие от систем CRISPR-Cas, использующих закодированные в геноме гидовые РНК, белки-Аргонавты используют гидовые молекулы, образующиеся непосредственно в процессе инфекции. Рассмотрены механизмы генерации гидовых молекул, обеспечивающие специфичность Аргонавтов к чужой ДНК, и возможное практическое применение подобных систем в генетических технологиях.

ГЕРОПРОТЕКТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ СТИМУЛЯТОРОВ МИТОФАГИИ

Лямзаев К.Г.^{а,в}, Челомбитько М.А.^{а,в}, Павлюченкова А.Н.^{а,в}, Пантелеева А.А.^а, Кондратенко Н.Д.^{б,в},
Краснов В.С.^а, Кирсанов Р.С.^а, Котова Е.А.^а, Зиновкин Р.А.^{а,в}, Антоненко Ю.Н.^а, Черняк Б.В.^а

^а НИИФХБ им. А.Н. Белозерского Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы 1, стр 40, электронная почта: Lyamzaev@gmail.com

^б Факультет биоинженерии и биоинформатики Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр 73

^в Российский клинический научный центр геронтологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российский национальный
исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Россия, 129226, Москва, 1-ая Леонова, д. 16

Митофагия, процесс селективного удаления дисфункциональных митохондрий с помощью аутофагии, играет ключевую роль в поддержании клеточного гомеостаза и предотвращении накопления поврежденных органелл. Нарушения митофагии ассоциированы с развитием возрастных заболеваний, включая нейродегенерацию, саркопению и сердечно-сосудистые патологии. Восстановление активности митофагии рассматривается как перспективная мишень для разработки геропротекторов, способных замедлять старение и предотвращать возрастные дисфункции (1). В представленном исследовании изучено производное 7-гидроксикумарина UB3C10, которое проявляет свойства низкотоксичного разобщителя митохондрий и стимулятора митофагии (2). UB3C10 эффективно снижает уровень окислительного стресса, защищает клетки от токсического действия доксорубицина и уменьшает признаки старения, такие как накопление β -галактозидазы и экспрессия маркеров клеточного цикла p16/p21. Временное снижение митохондриального потенциала под действием UB3C10 стимулирует аутофагию с последующим восстановлением популяции митохондрий за счет стимуляции их биогенеза. Эти свойства делают UB3C10 перспективным соединением для разработки новых терапевтических подходов в области геронтологии.

Литература

1. Chen G, Kroemer G, Kepp O. Mitophagy: An Emerging Role in Aging and Age-Associated Diseases. *Front Cell Dev Biol.* 2020 Mar 26;8:200. doi: 10.3389/fcell.2020.00200.
2. Krasnov VS, et al. Alkyl esters of 7-hydroxycoumarin-3-carboxylic acid as potent tissue-specific uncouplers of oxidative phosphorylation: Involvement of ATP/ADP translocase in mitochondrial uncoupling. *Arch Biochem Biophys.* 2022 Oct 15;728:109366. doi: 10.1016/j.abb.2022.109366.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-14-00061.

МЕХАНИЗМ СВЕТОЗАВИСИМОГО КАТИОННОГО ТРАНСПОРТА Na⁺-ТРАНСЛОЦИРУЮЩИМ РОДОПСИНОМ

Мамедов М.Д., Берцова Ю.В., Богачев А.В.,

Скулачев В.П.

НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234,
Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40, электронная почта: bogachev@belozersky.msu.ru

Микробные родопсины являются уникальными ретиналь-содержащими светозависимыми генераторами трансмембранного потенциала. Ранее, исходя из свойств хромофора этих белков, считалось, что они способны к помпированию либо протона, либо анионов. Однако относительно недавнее открытие Na⁺-транслоцирующего родопсина¹ поколебало эту догму, но поставило вопрос о механизме работы этой натриевой помпы. Наши исследования Na⁺-родопсина с использованием методик флеш-фотолиза, прямой электрометрии и сайт-специфического мутагенеза²⁻³ позволили предположить молекулярный механизм работы этого белка, основанный на принципе электронейтральности устойчивых интермедиатов⁴. Изучение Na⁺-транслоцирующих родопсинов важно из-за потенциальной роли этих белков в оптогенетике, а также для реконструкции эволюции биоэнергетических механизмов на ранних этапах развития жизни на Земле.

Литература:

1. Inoue K., et al., *Nat. Commun.*, 2013, **4**, 1678.
2. Bogachev A.V., et al., *Sci. Rep.* 2016, **6**, 21397.

3. Mamedov M.D., et al., *FEBS Lett.* 2016, **590**, 2827–2835.
4. Bogachev A.V., et al., *Biochemistry Moscow* 2022, **87**, 731–741.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проекты 14-14-00128 и 14-14-00128-П.

F-АТР СИНТАЗА И V-АТРАЗА: РОТОРНЫЕ ПРОТОННЫЕ НАНОМОТОРЫ КЛЕТОК. ОТ ОТКРЫТИЯ И ИССЛЕДОВАНИЯ – ДО СОЗДАНИЯ ЛЕКАРСТВ И ПРИМЕНЕНИЯ В КЛИНИКЕ

Маршанский В.Н.

*Нейро-Горизонт Фарма, 02067, Шарон, МА, США
электронная почта: vlad@neuro-horizonpharma.com*

История открытия и изучения работы двух роторных (вращательных) протон-переносящих АТРазных наномоторов: F-АТРазы/синтазы митохондрий/бактерий и V-АТРазы эукариот была ранее подробно описана в нашем обзоре¹. V-АТРаза является трансмембранным мультисубъединичным комплексом, имеющимся у всех эукариот, от дрожжей до человека^{2,3}. Она структурно и функционально сходна с F-АТРазой/синтазой митохондрий/бактерий что указывает на общность их эволюционного происхождения в качестве встроенного в мембраны клеток роторного протон-переносящего наномотора, изобретённого Природой миллиарды лет назад¹.

В 2003 году в нашей лаборатории была открыта новая роль V-АТРазы, которая наряду с её известной ролью протонного роторного наномотора также функционирует в качестве pH-сенсора и выполняет рецепторную сигнальную функцию взаимодействуя с малыми ГТФазами семейства Arf^{4,5,6}. Это открытие позволило создание и разработку нашей компанией Neuro-Horizon Pharma Inc. (NHP Inc.) пептидов и низкомолекулярных соединений для лечения раковых и нейродегенеративных заболеваний.

Важным направлением деятельности NHP Inc. также является разработка лекарственных препаратов для лечения туберкулёза и нетуберкулёзных микобактериальных инфекционных заболеваний. Разрабатываемые нами инновационные и высокоспецифичные низкомолекулярные соединения используют в качестве мишени F-АТФсинтазу микобактерий, основываясь на прорывных открытиях структуры и функции этого роторного наномотора^{7,8}. Для создания и доклинической разработки препаратов нацеленных на F-АТФазу/синтазу микобактерий, NHP Inc. сотрудничает с Nanyang Technological University (NTU) и Experimental Drug Development Center (EDDC) Сингапура а также Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) Франции.

Литература

1. Marshansky V. *Biochemistry (Moscow)*. 2022, **87**, 702-719.
2. Marshansky V., Rubinstein J.L. and Grüber G. *Biochimica et Biophysica Acta* 2014, **1837**, 857-879.
3. Marshansky V., and Futai M. *Cur. Opin. Cell Biol.* 2008, **20**, 415-426.
4. Hurtado-Lorenzo A., Skinner M., El Annan J., Futai M., Sun-Wada G-H., Bourgoin S., Casanova J., Wildeman A., Bechoua S., Ausiello D.A., Brown D. and Marshansky V. *Nature Cell Biol. (Articles)* 2006, **8**, 124-136.
5. Recchi C., and Chavrier P. *Nature Cell Biol. (News and Views)* 2006, **8**, 107-109.
6. Marshansky V. *Biochem. Society Trans.* 2007, **35**, 1092-1099.
7. Guo H., Courbon G.M., Bueler S.A., Mai J., Liu J. and Rubinstein J.L. *Nature* 2021, **589**, 143-149.
8. Rangunathan P., Ng P.S., Singh S., Poh W.H., Litty D., Kalia N.P., Larsson S., Harikishore A., Rice S.A., Ingham P.W., Müller V., Moraski G., Miller M.J., Dick T., Pethe K and Grüber G. *Microbiol. Spectr.* 2023, e0228223.

РНК-ХРОМАТИНОВЫЙ ИНТЕРАКТОМ – БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Миронов А.А.^{а,б}, Жарикова А.А.^{а,б}, Рябых Г.^{а,б}, Хлебников Д.^{а,б}, Звездин Д.^{а,б}

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: mironov@bioinfbb.msu.ru

^б Институт общей генетики им Н.Вавилова РАН. 119991, ГСП-1, Москва, ул. Губкина, д. 3

То, что с хроматином ассоциировано большое количество РНК известно достаточно давно. Однако лишь сравнительно недавно появились экспериментальные методы поиска контактов РНК с хроматином. Эти методы можно условно разделить на две основные группы: поиск контактов конкретной РНК (одна РНК против всех локусов ДНК) и поиск всех контактов всех РНК. Методы поиска контактов обоих типов показывают высокий уровень неспецифических контактов, обусловленный различными причинами. Поэтому для получения биологически осмысленных результатов необходим глубокий анализ данных и фильтрация возможных артефактов. Для начала мы разработали базу данных по РНК-хроматиновому интерактому. Нами было разработано несколько подходов для поиска биологически значимых контактов РНК с хроматином. Во-первых, мы разработали новый метод поиска пиков (сгущений контактов) в данных интерактома. Во-вторых, мы провели сравнение данных по РНК-хроматиновому интерактому, РНК-белковому интерактому и по ДНК-белковому интерактому и ДНК-ДНК интерактомам. Поскольку данные были получены существенно разными протоколами, то это позволило существенно понизить уровень шума в данных.

Литература

1. Mylarshchikov DE, Nikolskaya AI, Bogomaz OD, Zharikova AA, Mironov AA. BaRDIC: robust peak calling for RNA-DNA interaction data. *NAR Genom Bioinform.* 2024 May 20;6(2):lqae054. doi: 10.1093/nargab/lqae054. Erratum in: *NAR Genom Bioinform.* 2024 Jul 02;6(3):lqae080. doi: 10.1093/nargab/lqae080. PMID: 38774512; PMCID: PMC11106031.
2. Khlebnikov, Daniil A., et al. «Comprehensive analysis of RNA-chromatin, RNA-and DNA-protein interactions.» *bioRxiv* (2024): 2024-03.
3. Zvezdin, Dmitry S., et al. «Joint analysis of RNA-DNA and DNA-DNA interactomes reveals their strong association.» *bioRxiv* (2024): 2024-11.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проекты 23-14-00136.

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БЕТА-АМИЛОИДА С ИОНАМИ ЦИНКА: ВКЛАД В РАЗВИТИЕ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Митькевич В.А.^а, Козин С.А.^а, Макаров А.А.^а

^а Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32

Индукция и развитие болезни Альцгеймера (БА) сопряжены с образованием комплексов бета амилоида (A β) с ионами цинка. Патологические свойства A β индуцируются конформационным превращением эндогенных молекул A β из мономерного состояния в растворимые олигомеры и нерастворимые агрегаты, которые инициируют нейровоспаление и другие патологические процессы, ассоциированные с развитием БА и другими нейродегенеративными заболеваниями. Олигомеризация и агрегация A β обусловлена различными взаимодействиями участков пептида друг с другом и с ионами металлов. Образование комплексов с Zn²⁺ может как индуцировать металл-зависимую олигомеризацию A β , так и являться защитой от патологической агрегации A β . Связь комплексов A β :Zn²⁺ с развитием БА широко обсуждается, однако структурные данные пока не дают окончательного понимания приоритета взаимодействия цинка с определенными сайтами в A β . Каноническим металл-связывающим доменом считается участок A β 1-16, в котором ион металла координируется остатками H6, E11, H13, H14. Исследуя полноразмерный A β и его фрагменты, мы идентифицировали новый сайт связывания ионов цинка с A β , который образован боковыми цепями остатков E11, H13, H14, E22. Полученные нами данные позволяют по-новому взглянуть на молекулярный механизм взаимодействия A β с ионами металлов и прояснить роль патологических мутаций остатка E22 в индукции болезни Альцгеймера.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 19-74-30007.

ОБРАТНАЯ ГЕНЕТИКА И ИММУНОБИОЛОГИЯ ЦИТОКИНОВ

Недоспасов С.А.^{а,б,в}

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: sergei.nedospasov@gmail.com

^б Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32

^в Научно-технологический университет «Сирiuс»,
354340, Краснодарский край, Федеральная территория «Сирiuс», Олимпийский пр., д.1

Редактирование геномов относится к технологиям обратной генетики, ключевой из которых стала развитая в 80-х годах прошлого века технология эмбриональных стволовых клеток мыши, за которую Марио Капекки получил Нобелевскую премию 2007 г. Однако оказалось, что необратимая инактивация многих генов млекопитающих приводит к эмбриональной летальности, что не позволяет полноценно исследовать функции таких генов в контексте целого организма. Эта проблема была элегантно решена в лаборатории Клауса Раевского внедрением в трансгенных мышей системы loxP-Cre рекомбинации, что позволило создавать организмы с регулируемыми (кондиционными) нокаутами. За последние 30 лет в мире появились сотни трансгенных мышей с регулируемой (в т.ч. индуцибельной) экспрессией рекомбиназы Cre. Развитие CRISPR-Cas технологии принципиально облегчило создание трансгенных организмов, но не заменило предсуществующих систем, а просто облегчило их применение. В нашей лаборатории в течение многих лет изучаются физиологические функции провоспалительных цитокинов: TNF, лимфотоксина и Интерлейкина-6¹⁻³. В докладе будут представлены недавние результаты о функциях этих цитокинов, продуцируемых конкретными типами клеток иммунной системы.

Литература

1. Grivennikov et al., et al., Immunity 2005, 22, 93-104.
2. Kruglov et al., Science 2013, 342, 1243-1246.
3. Gubernatorova et al. Front. Immunol. 2018, 9, 2718.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 19-75-30032 и Министерства Науки и Высшего образования РФ, соглашение 075-10-2021-093.

ЧАСТИЧНЫЙ ВОЗВРАТ К ЭМБРИОНАЛЬНОМУ ТРАНСКРИПТОМУ И ВТОРАЯ ФИЛОТИПИЧЕСКАЯ СТАДИЯ У КУКОЛОК НАСЕКОМЫХ С ПОЛНЫМ ПРЕВРАЩЕНИЕМ

Озерова А.М., Гельфанд М.С.

Центр молекулярной и клеточной биологии, Сколковский институт науки и технологий,
Большой бульвар 30 стр. 1, Москва, 121205, Россия

Куколка большинства насекомых с полным превращением во многих отношениях похожа на яйцо: она не питается и не двигается. Что более существенно, в куколке активно происходят процессы дифференцировки и формирования тканей и органов.

Мы предположили, что в куколке могут работать те же регуляторные системы, что в эмбрионе. Для проверки были собраны все доступные данные о транскриптомах четырех стадий развития (эмбрион, личинка, куколка, имаго) насекомых с полным превращением (4 двукрылых, 3 чешуекрылых, по 1 перепончатокрылых и жесткокрылых). Оказалось, что в большинстве случаев транскриптомы куколок действительно больше похожи на транскриптомы эмбрионов, чем на личинок и имаго, а изменения экспрессии при переходе эмбрион–личинка положительно коррелируют с изменениями при переходе куколка–имаго¹.

Другим следствием из указанной гипотезы могло быть существование филотипической стадии в ходе развития куколки (филотипическая стадия — это стадия максимального сходства; в классической эмбриологии она постулируется законом Бэра). Для эмбрионов это было показано ранее: транскриптомы эмбрионов дрозофил менее похожи в начальных и конечных стадиях развития, чем в середине². Были сравнены развитийные серии транскриптомов *Drosophila melanogaster* и *D. virilis*

(экспериментальные данные были получены Д.А.Куликовой в лаборатории М.Б.Евгеньева, ИМБ РАН). Наблюдаемый паттерн оказался сложнее, чем предполагалось: помимо минимума, на одной из стадий развития куколки наблюдался противоположный эффект, максимум различия³.

Литература:

1. A.M.Ozerova, M.S.Gelfand, Recapitulation of the embryonic transcriptional program in holometabolous insect pupae. *Scientific Reports* 2022, 12, 17570. DOI: 10.1038/s41598-022-22188-y
2. A.T.Kalinka, ..., P.Tomancak. Gene expression divergence recapitulates the developmental hourglass model. *Nature* 2010, 468, 811-814, DOI: 10.1038/nature09634
3. A.M.Ozerova, D.A.Kulikova, M.B.Evgen'ev, M.S.Gelfand, Temporal dynamics of gene expression during metamorphosis in two distant *Drosophila* species. *bioRxiv* 2024. DOI: 10.1101/2024.06.17.599350

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-14-00136.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЗИОЛОГИ И ПАТОЛОГИЯ ЗРЕНИЯ: РОДОПСИН

Островский М.А.^{а,б}

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,

^б Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН, Россия, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4
электронная почта: ostrovsky3535@mail.ru

На протяжении почти 150 лет зрительный пигмент родопсин остается «горячей точкой» биологии, прежде всего физиологии зрения. Родопсину принадлежит ключевая роль в механизмах фототрансдукции, спектральной чувствительности, световой и темновой адаптации. Патогенез многих форм дегенеративных заболеваний сетчатки связан с нарушениями ретиноидного цикла родопсина.

В докладе рассматриваются некоторые актуальные вопросы молекулярной физиологии и патологии первичных процессов зрения, связанные с родопсином:

- фотохимия родопсина (как родопсина II типа) в фемто- и пикосекундных временных шкалах, и его сравнение с фотохимией бактериородопсина (как родопсина I типа)¹⁻⁴;
- супрамолекулярная организация родопсина в фоторецепторной мембране диска наружного сегмента зрительной клетки⁵;
- ретиноидный цикл и образование содержащих бисретиноиды липофусциновых гранул («пигмента старости») в клетках ретинального пигментного эпителия; свето-индуцированная генерация этими гранулами активных форм кислорода⁶ и их фототоксичность⁷⁻¹²;
- поиски путей (оптогенетического¹³ и антиоксидантного^{14,15}) защиты клеток ретинального пигментного эпителия от повреждающего действия липофусциновых гранул.

Литература

1. Ostrovsky M., Nadtochenko V. *Russian J. Phys Chem B.* 2021, 15, 344–351.
2. Smitienko O., et al., *J Phys Chem B.* 2021, 125, 995-1008.
3. Ostrovsky M., et al., *Biochemistry* 2023, 88,1528–1543
4. Smitienko O., et al., *Molecules* 2024, 29, 4847.
5. Feldman T., et al., *BBA – Biomembranes.* 2019, 1861,183000
6. Boulton M., et al., *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1993, 19, 201–204
7. Feldman T., et al., *Biophys. Rev.* 2022, 14,1051-1065.
8. Yakovleva M., et al., *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23,222.
9. Dontsov A., *Int. J. Mol.Sci.* 2022, 23, 1534.
10. Serejnikova N., et al., *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2024, 65, 31.
11. Dontsov A., et al., *Intl J Mol Sci.* 2023, 24,13099.
12. Dontsov A., Ostrovsky M., *Int. J. Mol. Sci.* 2024, 25, 3609.
13. Dobrynin N., et al., (unpublished).
14. Semenov A., et al., *Antioxidants.* 2023,12, 413
15. Lunegova D., et al., *FEBS J.* 2024, doi: 10.1111/febs.17335. Epub ahead of print

ТРАНСЛЯЦИЯ В ДРОЖЖЕВЫХ МИТОХОНДРИЯХ: НИЧЕГО НЕ ПОНЯТНО, НО ОЧЕНЬ ИНТЕРЕСНО

Пиунова У.Е.^а, Ханнанов Р.А.^а, Чичерин И.В.^а, Левицкий С.А.^а, Васильев Р.А.^а, Балева М.В.^а, Каменский П.А.^а

^а Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр.12,
электронная почта: peter@protein.bio.msu.ru

Биосинтез белка в митохондриях в целом организован по бактериальному типу, однако характеризуется рядом существенных отличий от трансляции у прокариот. Так, особенностью системы биосинтеза белка в митохондриях дрожжей является наличие у митохондриальных мРНК протяженных 5'-нетранслируемых областей. С этими областями связываются мРНК-специфические белки – трансляционные активаторы; без такого связывания трансляция конкретной мРНК невозможна. Трансляционные активаторы также физически связываются с митохондриальными рибосомами в процессе трансляции. При помощи аффинного мечения различных миторибосомных белков и трансляционных активаторов дрожжей, очистки митохондриальных рибосом методом ко-иммунопреципитации и последующей масс-спектрометрии нам удалось показать, что в дрожжевых митохондриях существуют рибосомы различного белкового состава, которые, судя по всему, транслируют различные мРНК.

Набор белковых факторов трансляции в митохондриях схож с таковым у бактерий. Хорошо известно, что бактериальная трансляция невозможна без каждого из факторов инициации IF2 и IF3. Мы показали, что в дрожжевых митохондриях в отсутствие их ортологов Ifm1p и Aim23p трансляция не останавливается, а количественно разбалансируется, что говорит о принципиально иной функциональной нагрузке на эти белки в сравнении с бактериальными ортологами.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 21-64-00006.

РОЛЬ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНОМА В УСТАНОВЛЕНИИ КОММУНИКАЦИИ МЕЖДУ ЭНХАНСЕРАМИ И ПРОМОТОРАМИ

Разин С.В.^{а,б}, Голов А.К.^а, Гаврилов А.А.^а, Ульянов С.В.^{а,б}, Штомпель А.С.^{а,б}

^а Институт биологии гена РАН, Россия 119334 Москва, ул. Вавилова д.34/5
^б Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: образец@mail.ru

Современная модель предполагает, что на энхансере собирается активаторный комплекс, содержащий транскрипционные факторы и различные компоненты транскрипционного аппарата (РНК-полимеразу II, медиатор и др.), которые потом переносятся на промотор. Наиболее популярной является в настоящее время модель, постулирующая, что энхансер прямо контактирует с промотором в результате выпетливания разделяющего энхансер и промотор фрагмента ДНК. Эта модель получила подтверждения по ходу изучения пространственной организации ряда геномных локусов. Однако универсальность модели вызывает вопросы в силу того, что на других локусах не наблюдается приближения энхансера к промотору по ходу активации энхансера. Результаты полногеномных исследований также не демонстрируют повсеместного установления пространственных контактов между энхансерами и активируемыми промоторами. Мы предположили, что это может быть связано с недостаточным разрешением полногеномных карт пространственной организации хромосом и разработали новый экспериментальный протокол (M-ChIP), позволивший построить карты энхансер-промоторных контактов с разрешением в 200 п.н. Анализ данных карт убедительно продемонстрировал, что более 65% реально работающих энхансеров устанавливают пространственные контакты с активируемыми промоторами. Также продемонстрировано, что большая часть энхансер-промоторных контактов формируется по независимому от инсуляторного белка CTCF пути. В поддержании этих контактов важную роль играют белки активного хроматина, формирующие жидкофазный конденсат, охватывающий энхансер и активируемый промотор. При этом присутствие на промоторах задержанных комплексов РНК полимеразы II стабилизирует (усиливает) энхансер-промоторные контакты.

ВЛИЯНИЕ ДИСАХАРИДА ТРЕГАЛОЗЫ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПИГМЕНТ-БЕЛКОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ

Семенов А.Ю.^{а,б}, Мамедов М.Д.^а, Venturoli G.^в, Francia F.^в,
Витухновская Л.А.^{а,б}, Милановский Г.Е.^а, Moebius K.^г

^а НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, с. 40, электронная почта: semenov@belozersky.msu.ru

^б ФИЦ Химической физики имени Н.Н. Семенова РАН Россия, 119991, Москва, ул. Косыгина, 4.

^в Department of Pharmacy and Biotechnology, University of Bologna, 40126 Bologna, Italy.

^г Department of Physics, Free University Berlin, Berlin, Germany

Дисахарид трегалоза является одним из лучших универсальных биопротекторов, известных в настоящее время. Он способен предохранять некоторые растительные и беспозвоночные организмы, бактерии, клетки, нуклеиновые кислоты и белки от экстремальных условий окружающей среды, включая засуху, высокую и низкую температуру, вакуум и космическое облучение. В течение нескольких лет наша научная группа, совместно с учеными из университета Болоньи (Италия) и Свободного университета Берлина (Германия), исследовала влияние высоких концентраций трегалозы, в том числе в высушенных трегалозных матрицах, на перенос зарядов в фотосистемах (ФС) 1 и 2, выделенных из кислородных организмов, и в хроматофорах фотосинтезирующих бактерий¹⁻⁴. Было показано, что при уменьшении влажности в трегалозных стеклах в комплексах ФС1 и ФС2 происходит замедление, а затем блокирование прямого переноса электрона, подобно тому, как это происходит при криогенных температурах. При высоких концентрациях в растворе трегалоза проникает через мембрану хроматофоров и существенно замедляет перенос зарядов в цитохромном bc_1 -комплексе. Трегалоза трансформирует систему внутрибелковых и приповерхностных водородных связей, существенно влияя на конформационную подвижность белка. Таким образом, дисахарид трегалоза является важным инструментом для изучения фундаментальных молекулярных механизмов функционирования белков, а также имеет практическое применение в качестве протектора для длительного хранения биообъектов при комнатной температуре.

Литература

1. Malferrari M., et al., BBA - Bioenergetics, 2016, 1857, 1440-1454.
2. Mamedov M., et al., BBA - Bioenergetics, 2021, 1862, 148413.
3. Venturoli G., et al., Int. J. Mol. Sci. 2024, 25, 1342
4. Gorka M., et al., Crit. Rev. Biochem. & Mol. Biol., 2020, 55:5, 425-468

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 23-74-00025.

ЗАЧЕМ РЕДАКТИРОВАТЬ ГЕНОМ?

Сергиев П.В.

НИИФХБ им. А.Н. Белозерского Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы 1, стр 40

Редактирование генома стало очень популярным термином, вызывающим самые разные эмоции у широкой публики. Чем же интересно редактирование генома, в особенности создание живых существ, животных с отредактированным геномом? Что это самое редактирование может дать ученым, врачам, обычному человеку? Может быть, он таит в себе опасность? В своем докладе я попробую представить результаты нашей группы по созданию генетически измененных мышей. Мы поговорим о решении фундаментальных научных задач функциональной геномики, т.е. о том, как определить функцию гена, если она пока еще неизвестна. В нашей группе мы определили функциональную роль нескольких таких генов, связанных с функционированием митохондрий, с модификацией митохондриальных рибосом, с усовершенствованием аппарата сплайсинга. Также мы поговорим о моделировании заболеваний человека, о том, как персонализированные мыши могут помочь определить причину той или иной патологии и даже помочь найти подход к ее лечению. В нашей лаборатории созданы модели нескольких эндокринных заболеваний человека, модель мужского бесплодия, разработаны подходы к моделированию онкологических заболеваний. Наконец, поговорим о том, к чему эта область движется и может привести. Каким будет будущее биологии? Сможем ли мы перейти от исследований к инженерной биологии и как этот путь пройти?

SKQ КАК ЛЕКАРСТВО: НОВОСТИ ПРОЕКТА «ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ИОНОВ СКУЛАЧЕВА»

Скулачев М.В.^{а,б}

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,

^б Компания Митотех и НИИ Митохондженирии МГУ, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 73а
электронная почта: max@mitotech.ru

Владимир Петрович Скулачев считал Проект SkQ своим главным детищем и видел его цель в создании лекарства, отвечающего самым высоким критериям доказательной медицины. Это сложная и многоуровневая задача, включающая как проведение стандартных исследований по токсикологии и фармакокинетике (хотя и в них SkQ ведет себя довольно необычно), так и изучение механизма действия вещества и связанной с ним фармакологической активности. Для В.Скулачева никогда не было проблем с описанием механизма действия SkQ: противодействие реакции Фентона в митохондриях и «мягкое» разобщение. Однако для фармакологов эти механизмы слишком необычны для определения правильного показателя к применению столь экзотического действующего вещества. В последние годы ситуация изменилась. Реакция Фентона выглядела оторванной от реальной жизни, пока не был открыт новый механизм клеточной смерти, связанный с перегрузкой железом и перекисным окислением липидов – ферроптоз. Оказалось, что SkQ демонстрирует беспрецедентную эффективность в борьбе именно с этим видом клеточной гибели, что объясняет многие ранее полученные результаты и указывает на конкретные показания к применению лекарств на основе SkQ. Нами были получены экспериментальные доказательства перспективности применения SkQ в борьбе с наследственными заболеваниями, ассоциированными с ферроптозом.

После пандемии COVID-19 рынок биотеха – фармацевтических разработок – оказался в глубоком кризисе. Но в одной области произошла настоящая революция – это борьба с ожирением. GLP-1 агонисты буквально перевернули рынок, оказавшись крайне успешными лекарствами. Это реанимировало интерес к митохондриям и особенно – к разобщителям. Нам опять пришли на помощь идеи В.Скулачева, которые прослеживаются на протяжении почти 70 лет. От экспериментов со «стриженными голубями» через знаковую статью в PNAS в 2010 году – до наших последних результатов, полученных на животных в 2023-2024 гг параллельно в трех исследовательских центрах, включая НИИ Митохондженирии МГУ. Два ключевых механизма действия SkQ – борьба с продуктами реакции Фентона и мягкое разобщение – имеют пересечение, подсказывающее, возможно, идеальное показание к применению для митохондриального антиоксиданта. В животной модели соответствующего заболевания нам удалось показать высокую эффективность SkQ и тем самым еще раз убедиться в правильности многих, пускай и весьма эксцентричных, идей В.Скулачева.

МИТОХОНДРИИ И ФЕРРОПТОЗ

Черняк Б.В.^а, Хуан Х.^б, Лямзаев К.Г.^{а,б}, Пантелеева А.А.^а, Симонян Р.А.^а, Аветисян А.В.^а

^а НИИФХБ им. А.Н. Белозерского Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы 1, стр 40. электронная почта: Vchernyak1@gmail.com

^б Факультет биоинженерии и биоинформатики Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр 73

^а Российский клинический научный центр геронтологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Россия, 129226, Москва, 1-ая Леонова, д. 16

Ферроптоз это регулируемая форма клеточной гибели, которая зависит от перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазматической мембране. Роль митохондрий в ферроптозе исследована недостаточно. Для изучения участия митохондрий в ферроптозе были использованы митохондриально-направленный антиоксидант SkQ1 и флуоресцентный зонд MitoClox, регистрирующий ПОЛ во внутренней мембране митохондрий. Показано, что в различных клеточных моделях ферроптоза ПОЛ в митохондриях предшествует гибели клеток. SkQ1 подавляет как ПОЛ в митохондриях, так и ферроптоз. Аналогичным защитным действием обладает редокс агент метиленовый синий, который предотвращает генерацию активных форм кислорода (АФК) в дыхательной цепи митохондрий. В фибробластах человека экзогенное железо вызывает ПОЛ в митохондриях, но не ферроптоз. Для индукции ферроптоза под действием железа необходимо подавление биосинтеза глутатиона, что приводит к накоплению АФК в цитоплазме фибробластов. Таким образом, перекисное окисление липидов во внутренней мембране митохондрий необходимо, но недостаточно для индукции ферроптоза.

Литература

1. Lyamzaev et al. Cells 2023, 12(4), 611. doi: 10.3390/cells12040611.
2. Lyamzaev et al. Biophys Rev 2023, 15(5), 875-885. doi: 10.1007/s12551-023-01126-w.
3. Lyamzaev et al. Biomolecules. 2024 14(6), 730. doi: 10.3390/biom14060730
4. Huan et al. Front Cell Dev Biol. 2024 12, 1452824. doi: 10.3389/fcell.2024.1452824.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-14-00084.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ОПТИЧЕСКАЯ БИОПСИЯ ДЛЯ НАВИГАЦИИ ПО ХИРУРГИЧЕСКОМУ ПОЛЮ

Ширшин Е.А.^{а,б}, Камалов А.А.^б

^аМосковский государственный университет имени М.В.Ломоносова, физический факультет, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2. электронная почта: eshirshin@gmail.com

^бМосковский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Медицинский научно-образовательный институт, Россия, 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 27, стр. 10. электронная почта: kamalov@mc.msu.ru

Создание новых технологий для помощи хирургам при проведении операций является одним из центральных направлений биомедицины. Для решения этой задачи широко используются методы оптической спектроскопии и микроскопии, что определяется возможностью проведения анализа в реальном времени и его молекулярной специфичностью. В результате развития биофотоники появилось направление, получившее название оптической биопсии, подразумевающее анализ типа ткани (например, опухоль/норма) *ex vivo* и *in vivo* по их оптическому отклику. В докладе будут представлен обзор достижений в области оптической биопсии с фокусом на навигацию по хирургическому полю при литотрипсии и в онкоурологии, а также перспективы внедрения интеллектуальных систем с обратной связью на основе оптической биопсии в лазерную хирургию.

КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА РИБОСОМЫ

Юсупова Г.Ж.^в, Юсупов М.М.^{а,б,в}

^аНаучно-исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия;

^бКазанский научный центр РАН, Казань, Россия;

^вИнститут генетики, молекулярной и клеточной биологии, Страсбург, Франция.

Кристаллографическое решение структуры рибосомы — это был совместный проект Института белка АН СССР и Института кристаллографии АН СССР. Для кристаллизации рибосомы были использованы знания и других лабораторий рибосомного сообщества Академии наук. Рибосома это макромолекулярный комплекс, состоящий из 4 молекул РНК и около 80 индивидуальных белков, выполняющий в клетке декодирование генетической информации и синтез соответствующего белка. Функциональные комплексы кристаллов рибосом, полученных из бактерий и дрожжей, позволили исследователям определить точные положения нуклеотидов и аминокислотных остатков в пространстве для различных состояний функции рибосом. Эти знания, наряду с исследованиями в области электронной микроскопии, расширяют наше понимание того, как регулируются основные процессы в рибосомах, включая декодирование матричной РНК, образование пептидных связей, транслокацию матричной РНК и транспортной РНК и ко-трансляционный транспорт зарождающегося пептида. Рибосома является мишенью для большого числа антибиотиков и других природных веществ, обладающих лечебными свойствами. Детальные знания структуры рибосомы и механизма синтеза белка в клетке используются сегодня в разработке новых лекарств и помогают понять и управлять некоторыми генетическими болезнями человека. Остаются также нерешенные задачи в структуре рибосом: не определена структура комплекса рибосомных белков L7/L12 и его аналогов на рибосоме и структуры высоко специфичных длинных сегментов рибосомной РНК у высших организмов (суммарно около 1 МДа).

Литература

1. Yusupova G, Yusupov M. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 2016, 372,1-9
2. Yusupova G, Yusupov M. Annu Rev Biochem 2014, 83, 467-486.

Секция

**«Биохимия, биоэнергетика
и геронтология»**

СНИЖЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К СТРЕССАМ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* В ПРОЦЕССЕ РАННЕГО РЕПЛИКАТИВНОГО СТАРЕНИЯ

Азбарова А.В., Галкина К.В., Кнорре Д.А.

НИИ Физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского МГУ имени М. В. Ломоносова,
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1 стр.40

Очищающий отбор действует слабее на вредные аллели, проявляющиеся после начала размножения. Совокупность фенотипических проявлений таких вредных аллелей приводит к возраст-зависимым нарушениям функционирования организма — старению. Скорость старения зависит от количества и свойств этих аллелей в геноме (генетического груза), а также от агрессивности окружающей среды. В экстремальных условиях вероятность отказа системы (смерти организма) может резко увеличиваться сразу после первого цикла размножения. Однако мало известно о том, что это за аллели, в частности, различаются ли генетические детерминанты в экстремальных и оптимальных условиях. В своей работе мы разработали систему для исследования скорости старения в стрессовых условиях для простейшей эукариотической модели — почкующихся дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Мы обнаружили, что во всех десяти исследованных стрессорных условиях устойчивость клеток дрожжей к стрессу падает уже после образования первой почки. Делеции генов *SIR2* и *FOB1*, влияющих на продолжительность жизни дрожжей в оптимальных условиях, не оказывали влияния на скорость старения в условиях стресса. Удаление митохондриальной ДНК увеличивало скорость старения в условиях большинства стрессов. Данные нашего исследования говорят о том, что механизмы старения в экстремальных и благоприятных условиях значительно различаются и иллюстрируют плейотропную роль митохондриальной ДНК при старении в разных условиях.

ВЛИЯНИЕ КРАТКОСРОЧНОГО ПРИЕМА ЭКЗОГЕННЫХ КЕТОНОВЫХ ТЕЛ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ПОЖИЛЫХ ЛЮДЕЙ

Айсин К.Н.^{а,б}, Марьясина С.С.^а, Вараева Ю.Р.^в, Польшаков В.И.^а

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: kamilaysin@yandex.ru

^б Центр молекулярной и клеточной биологии Сколковского института науки и технологий, Большой бульвар, 30, Сколково, Московская область, 143025, Россия,

^в ФГБУН Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва, 109240, Устьинский проезд, д. 2/14, Россия.

Контроль массы тела особенно важен и сложен у пожилых людей — вкуче с приобретенными заболеваниями, их осложнениями роль играют сложившиеся привычки, стресс и гиподинамия. Гипотетически, процесс расщепления доступного жира - кетоза — может быть запущен в отсутствии углеводного голодания. Для этого рацион может быть обогащен экзогенными кетонными телами, образующимися при кетозе. Одним из таких веществ является β-гидроксипутират (ВНВ). В случае запуска кетоза без дефицита поступающих углеводов, он мог бы быть решением для людей, не имеющих возможности контролировать массу тела переходом на низкоуглеводную диету по медицинским показателям.

В исследовании приняли участие 139 человек, которые были поделены на экспериментальную (n=69) и контрольную группы (n=70). Перед началом исследования каждый участник прошел детальное антропометрическое и биохимическое обследование. Обе группы придерживались своей обычной диеты и образа жизни, но экспериментальная группа в течение двух недель дополняла свой рацион 10 г. ВНВ. Для получения метаболических профилей использовали спектроскопию ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Образцы мочи и крови были взяты у всех участников исследования до и после приема ВНВ экспериментальной группой. Статистический анализ выявил кардинальные изменения в метаболическом профиле, а также существенные изменения в концентрации гиппурата, тригонеллина, сахарозы и лактата. У экспериментальной группы наблюдалось снижение массы тела за счет жировой массы при сохранении мышечной массы.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-14-00081.

ТРАНСПОРТ ИОНОВ НАТРИЯ ДОМИНИРУЕТ НАД ТРАНСПОРТОМ ПРОТОНОВ В МЕМБРАННОЙ ПИРОФОСФАТАЗЕ С ДВОЙНОЙ ТРАНСПОРТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТЬЮ

Анашкин В.А., Берцова Ю.В., Байков А.А., Богачев А.В.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: victor_anashkin@genebee.msu.ru

Катион-транспортирующие мембранные пирофосфатазы (мРРазы; КФ 7.1.3.1) различаются по своей транспортной специфичности. Они могут быть как строгими переносчиками H^+ , которые обнаружены во всех царствах жизни, так и Na^+/H^+ -котранспортерами, обнаруженными во многих прокариотах¹. Имеющиеся данные указывают на то, что этот переносчик использует для транспорта протона уникальный механизм «прямого сопряжения» в котором транспортируемый протон генерируется из нуклеофильной молекулы воды, осуществляющей гидролиз пирофосфата. Транспорт Na^+ лучше всего объясняется в рамках модели, в которой переносимый через воду протон «проталкивает» предварительно связанный ион Na^+ через транспортный канал («бильярдный» механизм)². Однако этот механизм в его простой форме неприменим к мРРазам, которые одновременно транспортируют Na^+ и H^+ без очевидной конкуренции между катионами (Na^+, H^+ -мРРазам). В данной работе мы изучили взаимосвязь процессов переноса Na^+ и H^+ , катализируемых рекомбинантной Na^+, H^+ -мРРазой из *Bacteroides vulgatus* в мембранных везикулах, с использованием пиранина в качестве флуоресцентного репортера транспорта³. При правильно выбранных условиях, включая добавление ионофора H^+ для преобразования притока Na^+ в эквивалентный отток H^+ , сигнал пиранина селективно отражает транслокацию только H^+ или только Na^+ . Используя метод остановленного потока, мы показали что H^+ и Na^+ транспортируются Na^+, H^+ -мРРазой в соотношении приблизительно 1:8, которое не зависит от концентрации Na^+ . Эти результаты были объяснены в рамках «расширенного бильярдного механизма», наиболее вероятный вариант которого предполагает кинетическое ограничение доставки Na^+ к месту загрузки транспортера.

Литература

1. Baykov, A.A., et al., *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2013, **77**, 267–276.
2. Baykov, A.A. *Front. Plant Sci.* 2020, **11**, 107.
3. Bogachev, A.V., et al., *Int. J. Mol. Sci.* 2024, **25**, 11963.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 22-24-00115.

СОДЕРЖАНИИ МЕДИ В ОСНОВНЫХ ТИПАХ ПОЧВ НИЖНЕГО ТЕЧЕНИЯ АМУДАРЬИ

Атаев Я.^а, Гурбанова О.Я.^б, Палязова Я.З.^б

^а Туркменский сельскохозяйственный институт, факультет агрономический, старший преподаватель, г.Дашогуз, Туркменистан
Email: yazgulyatayew@gmail.com

^б Туркменский сельскохозяйственный институт, факультет агрономический, преподаватель, г.Дашогуз, Туркменистан
Email: gurbanowaogultac20@gmail.com, yangilnonnazikjema@gmail.com

Введение. Медь – необходимый питательный элемент для растений. При отсутствии меди растения погибают, а при недостатке – болеют. В растениях медь содержится в небольшом количестве и колеблется от 1,5 до 8,1 мг/кг сухого вещества. По данным Л.П.Виноградова (1957) в различных почвах в среднем содержится следующее количество меди: в черноземе – 5,6 мг/кг, дерново – подзолистой – 2,4 в каштановой – 8,0 и в сероземе – 4,4. По определению содержания подвижных форм меди в почвах Центральной Азии выполнена большая работа. Е.К.Круглова на основе своих исследований дает следующую градацию обеспеченности почв медью: низкая до 0,4-0,8 мг/кг. Ниже приведены наши данные, характеризующие обеспеченность различных типов почв нижнего течения Амударьи подвижной медью.

Луговые почвы – один из наиболее распространенных типов оазиса. Данные по содержанию подвижной меди характеризуются результатами анализов почвенных разрезов, заложенных в 10 хозяйствах

7 этрапов на посевах 4-х культур: хлопчатника, риса, люцерны и кукурузы. В пределах обследованного типа наибольшее распространение имеют среднеобеспеченные почвы (0,4 – 0,8 мг/кг), затем, в убывающем порядке, с высоким и низким содержанием меди.

Низкообеспеченные почвы, нуждающиеся в применении медных удобрений имеются, в основном, в Ленинском и Ильялинском районах (сейчас Акдепинском этрапе).

По горизонтам разрезов определенной закономерности по содержанию подвижной меди не обнаружено. Но увеличение или уменьшение содержания больше всего зависело от механического состава почвы. С утяжелением мехсостава, как правило, содержание рассматриваемого питательного вещества возрастало. Выявлены почвы, требующие применения медных минеральных удобрений, это прежде всего земли с легким механическим составом.

Лугово-такыровидные почвы засолены в различной степени, отличаются низким содержанием гумуса и питательных веществ. Наибольшее распространение имеют низко обеспеченные почвы, затем среднеобеспеченные.

Содержание подвижной меди по горизонтам разрезов сравнительно однородное, хотя с глубиной ее содержание в большинстве случаев несколько увеличивается.

Такыровидные почвы характеризуются средним и низким содержанием подвижной меди. Для характеристики типа заложены в разрезе в 2-х районах на посевах хлопчатника. По горизонтам содержание меди сравнительно равномерно, но в Куния-Ургенчском этрапе с глубиной повышается.

В строении профиля лугово-болотных почв отмечается слабая дифференциация на генетические горизонты. В большинстве случаев механический состав этих почв суглинистый и глинистый. По засолению они довольно разнообразны.

Для характеристики почв заложены 3 разреза в 3-х хозяйствах 3-х этрапов на посевах хлопчатника и овощей.

Почвы в основном средне и высокообеспеченные. По горизонтам содержание подвижной меди сравнительно однородное.

Для характеристики пустынно-песчаных почв заложены 4 разреза в 3-х хозяйствах 3-х этрапов на посевах хлопчатника и люцерны. Как и следовало ожидать, все почвы данного типа по содержанию подвижной меди относятся к низко обеспеченной группе (до 0,4 мг/кг), что согласуется с результатами предыдущих наших исследований, проведенных в хозяйствах Прикопетдагской подзоны Туркменистана. Приведенные данные позволяют сделать практический вывод о том, что на пустынно-песчаных почвах Нижнеамударьинской подзоны следует применять медные микроудобрения под возделываемые сельскохозяйственные культуры.

Выводы. Наибольшее количество подвижной меди отмечено на солончаках и лугово-болотных почвах, наименьшее — на пустынно-песчаных. Установлена зависимость содержания подвижной формы меди от механического состава почв и степени окультуренности. На почвах тяжелого механического состава содержится больше меди, нежели легкого. Так же с возрастанием степени окультуренности почвы увеличивается количество подвижной меди. Все исследованные почвы в зоне нижнего течения Амударьи сильно карбонатны (6,5-12,5%), поэтому корреляция содержания меди с этим показателем не установлена.

Литература

1. Руководство по возделыванию хлопчатника – А.: Туркменская государственная издательская служба, 2022.
2. Гурбангелдиев С., Чапау А., Акмырадов Ш., Конопля С. Усовершенствованный способ получения семян хлопчатника. Журнал «Сельское хозяйство Туркменистана». № 12. 1999.
3. Гурбангелдиев С., Чапау А., Акмырадов Ш., Конопля С. Руководство по усовершенствованному способу получения элитных семян, внедряемых в производство элитных семян сорта хлопчатника. Ашхабад. 2000.
4. Сорта хлопчатника, созданные в золотом веке. А.: Наука - 2008.
5. Ягшиев А. Минеральные удобрения и качественные волокна // Хлопководство. 1986. № 4.
6. Равшанов Б., Сейткулиев Я., Мередов К. Влияние удобрений на технологические свойства волокна // Хлопководство. 1982. № 1.

ПРЯМАЯ И ОБРАТНАЯ АКТИВНОСТИ СУКЦИНАТ:МЕНАХИНОН ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ *BACILLUS SUBTILIS* РАЗЛИЧАЮТСЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ К HQNO

Ацаркина Н.В.

НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1 строение 40,
электронная почта: azarkina@yahoo.com

Сукцинат:хинон оксидоредуктаза (SQR) *Bacillus subtilis* осуществляет восстановление мембранного менахинона (MQ) сукцинатом, а также способна катализировать обратную реакцию восстановления фумарата мембранным менахинолом (MQH₂). Прямая реакция термодинамически невыгодна и в энергизованной мембране протекает за счет расходования $\Delta\mu\text{H}^+$. Обратная реакция не сопровождается ни генерацией, ни расходом $\Delta\mu\text{H}^+$. В представленной работе показано, что прямая и обратная активности SQR *B. subtilis* различаются чувствительностью к HQNO – ингибитору, структурно имитирующему семихинон MQ². Сукцинатоксидазная реакция, катализируемая суббактериальными мембранными частицами, ингибируется HQNO с $K_i = 0,5 \pm 0,2$ мкМ, что соответствует литературным данным². Фумаратредуктазная реакция измерялась на том же объекте в анаэробных условиях, с использованием NADH для восстановления мембранного MQ несопряженной NADH-дегидрогеназой (NDH-2). В этом случае наблюдалось ингибирование с $K_i = 5-7$ мкМ, что совпадает с параметрами ингибирования NADH оксидазной активности препарата и, очевидно, характеризует чувствительность к HQNO NDH-2. Данная величина является нижней оценкой чувствительности к HQNO менахинол:фумаратредуктазного процесса. Различие в чувствительности к низким концентрациям HQNO прямой и обратной активностей SQR согласуется с представлением об участии в соответствующих реакциях разных сайтов связывания хинона^{1,3}.

Литература

1. Azarkina, N.V., Biochim. Biophys. Acta 2024, 1866, 149522.
2. Smirnova, I.A., et al., FEBS Lett. 1995, 359, 23–26.
3. Christenson, A., et al., Biochim. Biophys. Acta 2008, 1777, 1203–1210.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-24-00143.

МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫХ ЭФФЕКТОВ НЕЙРОЛИПИНОВ И НЕЙРОПЕПТИДОВ

Бакаева З.В.^{а,б}, Бояркин Д.П.^а, Поликарпов Е.В.^б, Згодова А.Е.^б, Таржанов И.А.^б, Безуглов В.В.^в,
Акимов М.Г.^в, Грецкая Н.М.^в, Андреева Л.А.^г, Мясоедов Н.Ф.^г, Сурин А.М.^д, Пинелис В.Г.^а

^а ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, 119296, Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр.1,

^б ФГАУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 119048, г. Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр.2.

^в ФГБУН «ИБХ им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, 117437, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

^г ФГБУ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», 123182, г. Москва, пл. акад. Курчатова, д.1

^д ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, д.8.

Нейропротекторы позволяют сохранить жизнеспособность значительной части ишемизированной ткани. Наиболее эффективными являются нейропротекторы с множественными механизмами воздействия на различные звенья ишемического каскада. Этот подход достижим при помощи одного нейропротектора или комбинации нейропротекторов.

В ходе многолетней работы были изучены нейропротекторные свойства синтетических эндогенных биоактивных липидов – N-арахидоноил-L-серин (AA-Ser), N-арахидоноил-L-глицин (AA-Gly), N-докозагексаеноил-дофамина (DHA-DA) и пептидов – АКТГ(6–9)-PGP; KKRRPGP и PyrRP. Изучено дозозависимое влияние наиболее активных соединений на первичную нейроглиальную культуру коры головного мозга крыс в норме и при глутаматной эксайтотоксичности. Наиболее перспективным нейропротектором оказался DHA-DA (0,01 и 1,0 мкМ). Совместное применение DHA-DA с пептидом АКТГ 6-9 (100 мкМ) увеличивало выживаемость корковых нейронов до контрольных значений. Была дана многосторонняя оценка механизмов нейропротекторного действия DHA-DA и АКТГ 6-9. Анализ

изменений внутриклеточной концентрации кальция ($[Ca^{2+}]_i$) показал, что АКТГ 6-9 удлиняет лаг-период при действии глутамата, а DHA-DA предотвращает резкое увеличение $[Ca^{2+}]_i$ и снижение $\Delta\Psi_m$. Получены данные, отражающие влияние этих соединений на биоэнергетику митохондрий нейронов (скорость потребления кислорода, максимальное дыхание и резервная дыхательная емкость). Таким образом, нами изучены механизмы нейропротекторных эффектов нейролипина и нейропептида, а также показана максимальная нейропротекторная эффективность их сочетанного воздействия.

БОЛЕЗНЬ ПАРКИНСОНА И ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫЕ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ

Барина К.В.^а, Медведева М.В.^а, Шмальгаузен Е.В.^а, Муронец В.И.^{а,б}

^а НИИ Физикохимической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: barinovakv@belozersky.msu.ru

^б Факультет биоинженерии и биоинформатики, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,

Механизмы возникновения и развития синуклеинопатий, в частности болезни Паркинсона, до сих пор остаются не до конца изученными. Возможно, одной из причин противоречивости информации о механизмах синуклеопатий являются посттрансляционные модификации белков, которые влияют на их функциональную активность и взаимодействие с другими биомолекулами. Из-за разнообразия посттрансляционных модификаций их эффекты сложно учитывать. В наших работах мы изучали три вида посттрансляционных модификаций, а именно: окисление и S-нитрозилирование цистеиновых остатков, а также гликирование. Основным объектом в этих работах была глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (ГАФД), которая не только является ферментом гликолиза, но и вовлечена в различные дополнительные процессы, в том числе и во взаимодействие с амилоидными белками, в частности, с альфа-синуклеином. Было доказано, что любые модификации каталитических цистеиновых остатков ГАФД снижают ее активность, что приводит к замедлению гликолиза и, следовательно, к ухудшению энергетического обмена¹. Кроме того, гликирование фермента не только ухудшает снабжение клеток энергией, но и приводит к накоплению метилглиоксаля, модифицирующего другие белки, включая альфа-синуклеин². Модификация амилоидных белков изменяет их патологическую трансформацию, а также взаимодействие с белками-партнерами. Обсуждается взаимосвязь нейродегенеративных заболеваний и диабета, а также влияние нитрозативного и окислительного стрессов на развитие болезни Паркинсона³.

Литература

1. Medvedeva M.V. et al., Biochim Biophys Acta Gen Subj., 2023, 1867(9):130418.
2. Barinova K.V. et al., Arch Biochem Biophys. 2023, 733, 109485.
3. Muronetz V.I. et al., Biomolecules. 2021, 11, 1656.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-44-20003.

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОИНТЕНСИВНОГО СВЕРХКОРОТКОИМПУЛЬСНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ОРГАНИЗМА КРЫС

Баркин В.В.^а, Ананьева Ю.Е.^а, Захарова О.А.^а, Моисеева О.В.^а,
Краюхина К.Ю.^а, Белов А.С.^б, Гаранин С.М.^б, Кашин А.В.^б

^а ФГУП «Российский федеральный ядерный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики», Россия, 607188, Нижегородская обл., г Саров, пр. Мира, дом 37.

^б Научно-исследовательский институт измерительных систем имени Ю.Е. Седакова, филиал РФЯЦ-ВНИИЭФ, Россия, 603137, Нижний Новгород, ул. Тропинина, дом 47.

В настоящее время, в связи с непрерывным технологическим развитием, появились компактные источники высокоинтенсивных импульсных электромагнитных полей, в том числе со сверхкороткой длительностью фронта. Медико-биологическое действие сверхкороткоимпульсного электромагнит-

ного излучения (СК ЭМИ) является недостаточно изученным. При этом крайне важно исследовать механизмы воздействия такого излучения на клеточном и организменном уровнях¹.

Работа проводилась на базе предприятия, имеющего источник СК ЭМИ. Представлены результаты поисковых исследований, направленных на изучение однократного воздействия СК ЭМИ с амплитудой напряженности электрического поля до 100 кВ/м и частотой следования импульсов от 100 до 1000 Гц на электрофоретическую подвижность эритроцитов (ЭФПЭ), вариабельность сердечного ритма, оцениваемого по индексу напряжения (ИН), а также температурную реакцию крыс. Воздействие СК ЭМИ приводило к росту ИН и ректальной температуры ($p \leq 0,05$). Различие в физиологической реакции организма в ответ на воздействие проявилось в разнонаправленном изменении ЭФПЭ – значимые увеличение при 100 Гц ($p \leq 0,01$) и снижение при 1000 Гц ($p \leq 0,05$).

Полученные результаты выявили наличие эффектов воздействия СК ЭМИ на биологические объекты, что подтверждает необходимость проведения дальнейших теоретических и практических исследований влияния воздействий подобного рода.

Литература

1. Каляда Т.В., Афанасьев А.С., Кузнецов А.В. Медико-биологические проблемы при применении устройств, генерирующих широкополосные импульсы излучения. Гигиена и санитария. 2018; 97(12): 1195-1197. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-12-1195-1197>.

ИССЛЕДОВАНИЕ СЕЛЕКТИВНОСТИ ОКРУЖЕНИЯ ХРОМОФОР-СВЯЗЫВАЮЩЕГО САЙТА БАКТЕРИОРОДОПСИНА С ПОМОЩЬЮ АНАЛОГОВ РЕТИНОИДОВ

Беликов Н.Е.^а, Лукин А.Ю.^б, Демина О.В.^а, Ходонов А.А.^а

^а ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Россия, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4,
электронная почта: khodonov@gmail.com

^б МИРЕА – Российский технологический университет, Россия, 119571, Москва, пр-кт Вернадского, 86.

В этом году исполняется 54 года с момента открытия Д. Остерхельтом и В. Стокениусом уникального биофотохрома – светозависимой протонной транслоказы – бактериородопсина из экстремально галофильной бактерии *Halobacterium salinarum*.

Цель настоящей работы состояла в разработке и осуществлении на практике комплексного подхода к исследованию структурно-функциональных отношений в микробных родопсинах путем химической модификации функционально значимых элементов структуры молекулы хромофорной группы. В ходе ее реализации был решен следующий набор задач: 1. осуществлен поиск и разработка новых синтетических подходов к разнообразным модификациям молекулы ретиноидов; 2. исследованы физико-химические свойства и спектральные характеристики синтезированных ретиноидов; 3. изучено влияние разнообразных типов модификаций хромофорной группы бактериородопсина на способность его апобелка к образованию комплексов; исследованы фотохимические свойства и протонный транспорт его аналогов; 4. проведено моделирование пространственных ограничений центра связывания хромофора этого белка.

На основе результатов собственных исследований и литературных данных нами была создана база данных “Properties of artificial bacteriorhodopsin analogs. From 1975 to 2019”, версия 2-2020, суммирующая сведения о способности апобелка (бактериородопсина – BO) к образованию ковалентных и нековалентных комплексов с различными полиеновыми соединениями и об их фотохимических и функциональных свойствах¹. Сравнительный анализ нашей базы данных, показал, что, диверсифицируя природу хромофора, можно напрямую изменять λ_{\max} в спектрах аналогов бактериородопсина в широком интервале (от 412 до 830 нм).

Литература

1. Khodonov A.A., Belikov N.E., Demina O.V. Database “Properties of artificial bacteriorhodopsin analogs. Version 2, 2020. IBCP/MIPT, Moscow, Russia 186 pp. http://biochemphysics.ru/assets/upload/documents/docs/BRDT_v2.pdf

СОЛЮБИЛИЗИРОВАННАЯ ХИНОЛОКСИДАЗА ТИПА *BD ESCHERICHIA COLI* В ПОЛНОСТЬЮ ВОССТАНОВЛЕННОМ СОСТОЯНИИ СПОСОБНА СВЯЗЫВАТЬ ЦИАНИД

Борисов В.Б.^{а,б}, Арутюнян А.М.^а

^а Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40
электронная почта: bor@belozersky.msu.ru

^б Факультет биоинженерии и биоинформатики, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 73

Хинолоксидаза типа *bd* относится к одному из двух надсемейств кислород-редуктаз, встречающихся у бактерий и архей. Фермент содержит три гема, *b-558*, *b-595* и *d*, и сопрягает окисление убихинола либо менахинола молекулярным кислородом с генерацией трансмембранной разности электрохимических потенциалов ионов водорода¹. Оксидаза *bd-I* вносит вклад в механизмы защиты *Escherichia coli* от некоторых антибиотиков, пероксинитрита, монооксида азота, перекиси водорода, сульфида, аммиака². Ферменты этого типа в настоящее время рассматриваются в качестве перспективных белковых мишеней для разработки противомикробных препаратов нового поколения. В этой работе с применением спектроскопии поглощения и МКД мы показали, что изолированный солюбилизованный фермент *bd-I E. coli*, восстановленный дитионитом, способен реагировать с цианидом³. Найдено, что цианид связывается с феррогемом *d* и не связывается с феррогемами *b-558* и *b-595*. Кажущаяся константа диссоциации комплекса феррогема *d* с цианидом составляет $\sim 0,052$ М. Кинетика связывания цианида указывает на наличие только одного сайта связывания лиганда в белке. Наблюдаемая скорость реакции линейно возрастает с увеличением концентрации цианида. Значение константы скорости второго порядка составляет $\sim 0,1$ М⁻¹с⁻¹. Полученные данные позволяют лучше понять молекулярные механизмы, лежащие в основе ингибирования цианидом терминальных оксидаз, содержащих специфический гем хлоринового типа (гем *d*), который не обнаруживается в других кислород-редуктазах.

Литература

1. Борисов В.Б., Биохимия 2023, **88**, 1818-1828.
2. Borisov V.B., et al., *Antioxid. Redox Signal.* 2021, **34**, 1280-1318.
3. Borisov V.B., et al., *J. Inorg. Biochem.* 2024, **259**, 112653.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-24-00006.

БЫСТРЫЕ ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ НА ДЕЙСТВИЕ БЛОКАТОРОВ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ, АНТИОКСИДАНТОВ И ИЗМЕНЕНИЕ ВОДНО-СОЛЕВОГО БАЛАНСА ТКАНЕЙ

Будаговская Н.В.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40.
электронная почта: postnabu@mail.ru

Исследовались быстрые ответные реакции растений пшеницы, ячменя, овса, кукурузы, риса, гречихи, гороха на действие блокатора кальциевых каналов верапамил, антиоксиданта амбиола и изменение водно-солевого баланса тканей (кратковременные NaCl-засоление и засуха)¹⁻³. Выявлены двухфазные ответные реакции растений – быстрая фаза (мин) и медленная (ч) на действие указанных факторов. Верапамил вначале усиливал транспорт воды и рост растений, в дальнейшем снижал и вызывал морфологические изменения в их органах при длительном воздействии или повышенных концентрациях. На основании полученных данных высказано предположение о кооперативном действии кальциевых и водных каналов в регуляции функциональной активности растений. Антиоксидант амбиол усиливал транспорт воды и рост растений, а в сочетании с верапамилом нейтрализовывал его негативное влияние на функциональную активность. При кратковременном засолении отмечена двухфазная адаптивная восстановительная реакция растений – быстрая (мин) и медленная (ч), связанная

с биосинтезами *de novo* протекторных соединений (глицинбетаин). Зарегистрирован колебательный характер транспорта воды и скорости роста растений, меняющийся при изменении водно-солевого баланса в тканях и при блокировании кальциевых каналов. Обнаружены высокоамплитудные низкочастотные колебания с периодом близким к 1 ч и низкоамплитудные высокочастотные колебания с периодом менее минуты. Изменение режима колебаний, включая изменение амплитуд и частот, представляет собой динамический язык коммуникации, способ функциональной интеграции органов (корень — стебель — лист) в системе целого растения и быстрый вид регуляции физиологической активности растений.

Литература

1. Будаговская Н.В., Актуальная биотехнология 2024, 2, 42-43.
2. Будаговская Н.В., Актуальная биотехнология 2023, 3, 11-12.
3. Будаговская Н.В., Актуальная биотехнология 2022, 1, 322.

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКОВ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК

Булгакова У.В.^а, Марьясина С.С.^а, Большаков С.А.^б, Ивлев В.А.^в, Шутов Е.В.^в, Польшаков В.И.^а

^а *Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: uliana-bulgakova@mail.ru*

^б *Московский многопрофильный научно-клинический центр имени С.П. Боткина, Россия, 125284, Москва, 2-й Боткинский проезд, д. 5.,*

^в *Российский университет дружбы народов, Россия, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.*

Хроническая болезнь почек (ХБП) представляет собой серьезное заболевание, характеризующееся прогрессирующим снижением функции почек и высоким риском сердечно-сосудистых осложнений. В последние годы особое внимание уделяется роли кишечной микробиоты в патогенезе и развитии ХБП, а также потенциалу применения пробиотиков в качестве поддерживающей терапии для коррекции метаболических нарушений.

В рамках нашего исследования мы изучили влияние пробиотиков на метаболический профиль 62 пациентов с ХБП, находящихся на заместительной почечной терапии (гемодиализ и перитонеальный диализ). Пациенты на гемодиализе получали пробиотик «Максилак», а на перитонеальном диализе — «Нормофлорин-Д» в течение одного месяца. Образцы крови до и после приема пробиотиков анализировались с помощью метода ядерной магнитной резонансной спектроскопии (ЯМР-спектроскопии), что позволило идентифицировать 55 метаболитов.

Статистический анализ выявил значимые изменения в 12 метаболитах у пациентов на гемодиализе и в 9 метаболитах у пациентов на перитонеальном диализе после приема пробиотиков. Полученные данные свидетельствуют о влиянии пробиотиков на метаболизм аминокислот, пуринов и глюкозы, что может способствовать улучшению метаболической регуляции и снижению уровня уремических токсинов.

Дальнейшие исследования будут направлены на изучение механизмов метаболической регуляции и разработку персонализированных подходов к лечению пациентов с ХБП, что может улучшить их качество жизни и клинические исходы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Московского правительства, проект 1803-7/23.

ДЕТАЛИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ТРЕХЪЯДЕРНОГО МЕДНОГО ЦЕНТРА ТИОЦИАНАТДЕГИДРОГЕНАЗ

Варфоломеева Л.А.^а, Ефимов Н.Н.^б, Ротов А.В.^б, Уголкова Е.А.^б,
Дергоусова Н.И.^а, Бойко К.М.^а, Тихонова Т.В.^а, Попов В.О.^{а,в}

^а Институт биохимии ФИЦ биотехнологии РАН, 119071, Москва, Ленинский проспект, 33,
электронная почта: l.varfolomeeva@fbras.ru

^б Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Россия, 119991, Москва, Ленинский проспект 31.

^в Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1.

Медь является важным микроэлементом для живых организмов, вовлеченным в такие биологические процессы, как аэробное и нитратное дыхание, деструкция полисахаридов и лигнина и др. Во всех этих процессах медь выполняет роль кофактора соответствующих оксидоредуктаз. Ранее в нашей лаборатории был охарактеризован фермент нового класса – тиоцианатдегидрогеназа (TcDH)¹, катализирующий ключевой этап в энергетическом метаболизме бактерии *Thioalkalivibrio paradoxus* при росте на тиоцианате в качестве единственного источника энергии и азота. Дифракционные данные атомного разрешения, полученные для гомологичного фермента из *Pelomicrobium methylotropicum*, позволили детально описать структуру трехъядерного медного центра TcDH (Cu₁₋₃) в свободном состоянии и со связанными ингибиторами и уточнить первые этапы механизма каталитической реакции TcDH². Методом ЭПР-спектроскопии показано восстановление двух ионов меди (II) медного центра фермента при связывании ингибитора – селеноцианата. При этом третий ион меди остается в окисленном состоянии и координирован тремя атомами азота. Методом точечного мутагенеза, ЭПР-спектроскопии и рентгеноструктурного анализа показано, что замена координирующих гистидинов на глутамин не приводит к полной потере способности связывать ионы меди в активном центре, но фермент при этом не проявляет активности в реакции с тиоцианатом. Полученные данные расширяют понимание свойств медного центра ферментов данного класса.

Литература

1. Tikhonova T.V., et al., Proc Natl Acad Sci USA 2020, 117, 5280-5290.
2. Varfolomeeva L.A., et al., Int J Biol Macromol. 2024, 279, 135058.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-74-30004.

ИЗМЕНЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИНАМИКИ И АУТОФАГИИ В ОБЛАСТИ ЛАКУНАРНЫХ ИНФАРКТОВ БАЗАЛЬНЫХ ЯДЕР ЧЕЛОВЕКА

Вельц О.В.^а, Баранич Т.И.^{а,б}, Гофман А.А.^а, Воронков Д.Н.^б, Ануфриев П.Л.^б, Сухоруков В.С.^{а,б}

^а ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский Университет), Москва, ул. Островитянова, д.1, 117513

^б ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Волоколамское шоссе, д.80., 125367

электронная почта: welzolg@mail.ru

Гипоксическое повреждение головного мозга, в том числе сопровождающееся появлением очагов хронической ишемии – лакунарных инфарктов (ЛИ), является актуальной медико-социальной проблемой¹. Как известно, нейроны, располагающиеся на разном удалении от границы ЛИ, находятся в зонах с различной выраженностью гипоксического повреждения, которое может приводить к изменению митохондриальной динамики и аутофагии дефектных органелл². С целью оценки этих процессов нами было проведено иммуногистохимическое исследование распределения маркеров митохондриальной динамики (отвечающих за деление (Dgp-1) и слияние (Opa1) митохондрий) и маркеров макроаутофагии (Beclin, LC3B) на аутопсийном материале головного мозга человека с наличием ЛИ в области базальных ядер. Для анализа отбирали сохранные нейроны в трех зонах: в наиболее близкой к границе ЛИ зоне; в периинфарктной зоне ЛИ (на границе с сохраненной тканью); в интактной зоне за пределами ЛИ. Контролем являлись аутопсийные случаи без ЛИ. В зоне наиболее близкой к границе ЛИ обнаружено достоверное повышение белков beclin и Opa на фоне высокого уровня маркера LC3 по сравнению с контролем, в то время как белок Dgp-1 был достоверно увеличен в интактной зоне. Полученные результаты свидетельствуют о том, что в зоне с наиболее выраженными гипоксическими изменениями усилена аутофагия и преобладает процесс слияния митохондрий, в то время как в интактной зоне усилен процесс митохондриального деления, что может иметь различное адаптационное значение.

Литература

1. Yunfei Zhao., et al., *Neuronal injuries in cerebral infarction and ischemic stroke: From mechanisms to treatment (Review)*. *Int J Mol Med*, 2022, **49**, 15
2. Jia Zheng., et al., *Autophagy in Intracerebral Hemorrhage: From Mechanism to Regulation*. *J. Integr. Neurosci.* 2023, **22(5)**, 134

ДВОЙСТВЕННАЯ РОЛЬ БЕЛКА P62 В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ КАСПАЗЫ-2

Волик П.И.^{а,б}, Замараев А.В.^{а,б}, Егоршина А.Ю.^б, Первушин Н.В.^{а,б}, Капуста А.А.^б,
Тюрин-Кузьмин П.А.^б, Липатова А.В.^а, Вячеславов А.И.^{а,б},
Федулов А.П.^а, Животовский Б.^{а,б,в}, Копейна Г.С.^{а,б}

^а Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Россия, 119991, Москва.

^б Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва.

^в Каролинский институт, Швеция, SE-17177, Стокгольм.

Каспаза-2 является уникальной и консервативной цистеиновой протеазой, которая участвует во многих клеточных процессах: регулирует различные формы клеточной гибели, поддерживает стабильность генома, обеспечивает ответ на окислительный стресс. Несмотря на большое количество опубликованных работ, посвященных изучению каспазы-2, механизмы, лежащие в основе активации данного фермента, остаются в значительной степени неясными. Было показано, что каспаза-2 активируется в комплексе PIDDosome в ответ на генотоксический стресс. Тем не менее, позже было установлено, что процессинг данной протеазы может происходить и в отсутствие ключевых белков упомянутого комплекса, PIDD1 и/или RAIDD, что позволяет предположить существование альтернативной платформы активации каспазы-2. Мы выяснили, что каспаза-2 подвергается убиквитинированию, а также взаимодействует с убиквитин-связывающим белком p62 как в нормальных условиях, так и в ответ на повреждение ДНК. Согласно нашим данным, повышенный уровень p62 способствовал протеасомной, но не аутофагической деградации каспазы-2, а также вызывал димеризацию и активацию фермента, что запускает каскад каспаз и, как следствие, гибель клеток. Подавление экспрессии гена, кодирующего p62, приводило к ослаблению активации каспазы-2 и апоптозу, запускаемому цисплатином. Также мы показали, что ключевую роль для связывания p62 с каспазой-2 играет

ZZ-домен р62, тогда как домен UBA, по-видимому, необходим для стабилизации комплекса р62-каспаза-2. Таким образом, р62 может как способствовать деградации каспазы-2 в протеасоме (в норме), так и способствовать её активации в условиях повреждения ДНК.

Литература

1. Tinel, A. and Tschopp, J. *Science*. 2004, **304**, 843–846.
2. Manzl, C. *et al. J. Cell Biol.* 2009, **185**, 291–303.
3. Vigneswara, V. and Ahmed, Z. *Cells* 2020, **9**, 1259.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-74-30006.

СИНТЕТИЧЕСКИЕ И ПРИРОДНЫЕ ГЕРОПРОТЕКТОРЫ

Гаврилова Д.Д., Зимина А.А., Кучминская М.Б., Ушакова А.А., Безсонов Е.Е.

*ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)
Россия, 119048, Москва, Трубецкая улица, 8, стр. 2
электронная почта: dzibrova@yandex.ru*

Старение связано с потерей физиологических функций, ростом рисков заболеваний, накоплением патологических изменений, усилением окислительного стресса и воспалений. Исследование направлено на оценку геропротекторов, применяемых в лечении заболеваний, связанных со старением. Геропротекторный эффект метформина заключается в снижении содержания АФК и маркеров воспаления, активацией AMPK и ингибированием mTOR, подавлением IGF-1 и NF-κB¹. Рапамицин ингибирует сигнальный путь mTOR, активируя SIRT1 и AMPK²; поддерживает протеостаз через аутофагию и митофагию. В геропротекторной терапии используются и природные вещества. Флавоноиды кверцетин и гемперидин снижают уровень АФК и ферроптоза, ингибируют моноаминоксидазу, стимулируют Nrf2/ARE. На моделях болезни Альцгеймера предотвращают агрегацию бета-амилоида, понижают образование цитокинов модуляцией NF-κB и NLRP3³. Куркумин, потенциальный геропротектор в лечении болезни Альцгеймера, ингибирует AChE, BChE, снижает окислительный стресс, увеличивает клеточную пролиферацию и фосфорилирование CREB, ингибирует агрегацию Aβ^{3,4}. Спермидин обладает противовоспалительными эффектами, а также уменьшает миопатию и старение скелетных мышц потенцированием аутофагии, регуляцией Atg7, Atg15 и Atg11, повышением eIF5A и TFEB и снижением экспрессии ацетилтрансферазы EP300^{4,5}. Геропротектор G-Rg2 проявляя противовоспалительные и антиоксидантные свойства, активирует AMPK и подавляет mTOR⁶. G-Rg2 может использоваться в лечении сердечно-сосудистых заболеваний и заболеваний ЦНС. Проанализировав данные вещества, мы предлагаем развить исследования, совмещая растительные и синтетические препараты. Комплексная медикаментозная терапия может способствовать повышению эффективности лечения заболеваний, ассоциированных со старением.

Литература

1. Hassani, B., et al., *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2022, 2022, 1–25.
2. Elliehausen, C.J., et al., *BMC Biology* 2023, 21, 287
3. Bellavite, P., *Antioxidants* 2023, 12, 280.
4. Babich, O., et al., *Molecules* 2022, 27, 2276.
5. Moskalev A.A., *Biochemistry (Mosc)*. 2023, 88(11),1732-1738.
6. Zhang Y.Z., et al., *J Ethnopharmacol*. 2025, 337(Pt 1), 118781.

ДЕЙСТВИЕ СЕРОВОДОРОДА НА СТРУКТУРУ И ЦЕЛОСТНОСТЬ МЕМБРАН МИТОХОНДРИЙ ЭПИКОТИЛЕЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА ПРИ ОБЕЗВОЖИВАНИИ

Герасимов Н.Ю., Неврова О.В., Жигачева И.В., Генерозова И.П., Голощапов А.Н.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля
Российской академии наук, 119334 ул. Косыгина, 4, г. Москва, Россия
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая, 35, Москва, 127276, Россия
E-mail: n.yu.gerasimov@gmail.com

Молекула сероводорода (H_2S) входит в состав сигнального пути и принимает участие в ответе защиты растений от различных экзогенных стресс-факторов. Стресс может вызывать накопление активных форм кислорода, усиливать пероксидное окисление липидов мембран в листьях растений. В период прорастания семена растений очень уязвимы к внешним воздействиям, в том числе к обезвоживанию. Сероводород в ответ на стресс может регулировать активность антиоксидантных ферментов, что приводит к снижению уровня активных форм кислорода (АФК), H_2O_2 и супероксид-аниона в клетках, продуктов окисления липидов, в том числе и малонового диальдегида. Однако, механизмы влияния присутствия H_2S на структуру и целостность мембранного матрикса клеток растений плохо изучены. В связи с этим, целью работы было изучение изменений структуры мембран митохондрий, выделенных из эпикотилей проростков гороха в условиях дефицита воды, при предварительной обработке семян раствором гидросульфида натрия в разных концентрациях.

Семена гороха *Pisum sativum* L промывали и замачивали в воде. Затем держали на влажной фильтровальной бумаге 20 ч, после чего часть семян помещали на 5 ч на фильтровальную бумагу, смоченную раствором NaHS в дозах $6 \cdot 10^{-3}$ М, $2 \cdot 10^{-4}$ М и $5 \cdot 10^{-6}$ М (опытная группа). Затем проростки контрольной группы (дефицит воды) и проростки, обработанные NaHS, на двое суток переносили на сухую фильтровальную бумагу. Через двое суток проростки обеих групп переносили на смоченную водой влажную фильтровальную бумагу. На пятые сутки выделяли митохондрии из эпикотилей проростков гороха всех исследуемых групп методом дифференциального центрифугирования в калий-фосфатном буфере. Содержание белка определяли методом Лоури. Микровязкость липидного бислоя мембран определяли методом электронного парамагнитного резонанса спиновых зондов, таких как стабильные нитроксильные радикалы 2,2,6,6-тетраметил-4-каприлоилоксилпиперидин-1-оксил (зонд I) и 5,6-бензо-2,2,6,6-тетраметил-1,2,3,4-тетрагидрокарболин-3-оксил (зонд II).

Обработка семян проростков гороха NaHS в дозах $6 \cdot 10^{-3}$, $2 \cdot 10^{-4}$ и $5 \cdot 10^{-6}$ М приводила к сдвигу термоиндуцированных структурных переходов в прибелковых и липидных областях мембран митохондрий в сторону более низких температур относительно контроля. Сдвиг структурных переходов в область более низких температур указывает на уменьшение кристалличности липидного бислоя. Все графики температурных зависимостей времен корреляции вращательной диффузии при воздействии NaHS в дозах $5 \cdot 10^{-6}$ и $2 \cdot 10^{-4}$ М лежали выше, чем для контрольной группы, что указывает на увеличение микровязкости обеих областей мембран митохондрий. Увеличение микровязкости мембран митохондрий на фоне уменьшения их кристалличности может быть объяснено одновременным накоплением осмолитов и увеличением активности антиоксидантных ферментов при воздействии экзогенного NaHS. Для проверки данного предполагаемого механизма действия экзогенного NaHS на структурные характеристики также было исследовано влияние дефицита воды и NaHS на скорость окисления НАД-зависимых субстратов митохондриями, выделенными из проростков гороха.

МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ЦИНК-ИНДУЦИРОВАННЫХ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В КЛЕТКАХ КРОВИ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

Гармаза Ю.М.^а, Слобожанина Е.И.^б

^аГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий», Долгиновский тракт, 160, 220053, Минск, Республика Беларусь, электронная почта: garmaza@yandex.ru

^бГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь

В последние два десятилетия произошел значительный прогресс во многих областях биологии цинка, чему способствовало появление новых мощных лабораторных инструментов. Чувствительность и специфичность этих методов позволили определить общее содержание цинка в клетке, необходимое для ее оптимального роста и установить, что значительное количество внутриклеточного цинка связывается с белками и опосредует их важнейшие структурные и каталитические функции. Был достигнут значительный прогресс в понимании молекулярных свойств, экспрессии, регуляции, а также клеточной и физиологической роли цинковых транспортеров. Более того, обнаруживается все больше доказательств того, что нарушение цинкового гомеостаза именно из-за дисфункции его транспортных систем приводит к возникновению и прогрессированию в организме различных патологических процессов.

Наш научный коллектив внес определенный вклад в фундаментальный аспект клеточной биологии цинка¹. Так, используя модельную систему эритроцитов человека, был разработан метод определения содержания внутриклеточного лабильного пула ионов цинка. Изучено участие ионов цинка в регуляции программируемой гибели клеток крови человека и разработана клеточная-тест система для определения токсичности данного микроэлемента в организме. Исследована сигнальная роль внутриклеточного лабильного пула цинка в развитии устойчивости эритроцитов человека к окислительному стрессу *in vitro*. Оценено структурно-функциональное состояние эритроцитов человека при моделировании клеточного дефицита цинка *in vitro*. Определена роль металлотioneинов (I и II типов) и транспортных систем (ZnT1, ZnT8, ZIP10, ZIP13) в поддержании клеточного гомеостаза цинка при метаболических нарушениях.

Литература

1. Гармаза Ю.М., Слобожанина Е.И. Цинк в живом организме. Биологическая роль и механизмы действия. Минск : Беларуская навука, 2021. – 189 с.

СИНЕРГИЗМ АНТИОКСИДАНТОВ РЕСВЕРАТРОЛА И ДОНОРА ОКСИДА АЗОТА В СИСТЕМЕ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ОТ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Герасимов Н.Ю., Неврова О.В., Жигачева И.В., Голощапов А.Н.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля
Российской академии наук, 119334 ул. Косыгина, 4, г. Москва, Россия
E-mail: n.yu.gerasimov@gmail.com

В жизнедеятельности клетки окислительные процессы играют ключевую роль. Цепные реакции окисления идут по свободно-радикальному механизму с участием, в том числе, активных форм кислорода (АФК). В работе здоровой клетки образование радикалов является естественным результатом метаболических процессов. Однако, патологическое накопление АФК в клетке может приводить к пероксидному окислению липидов (ПОЛ) биологических мембран, уменьшению ненасыщенных жирных кислот в липидах и изменению вязкости липидного бислоя. Разрушающее действие АФК на липиды мембран клеток ведет к митохондриальным дисфункциям и процессам клеточного старения. Для нормального функционирования клетки эволюция сформировала некоторые защитные механизмы в виде антиоксидантной системы vs ПОЛ. Известно, что даже в небольших количествах антиоксиданты способны уменьшать скорость окисления. Тогда начинает играть роль такое понятие, как синергизм антиоксидантов и их возможностей.

Поэтому целью работы было исследование взаимодействия антиоксидантов – растительного полифенола ресвератрола и донора оксида азота серанитрозильного комплекса железа с тиосульфатом $\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (ТНКЖ-тио), и их совместного действия на митохондрии эпикотилей проростков гороха.

Показано, что действие ТНКЖ-тио в концентрации 10^{-4} М приводило к нарушению структурного состояния мембран митохондрий, выделенных из эпикотилей проростков гороха, что проявлялось в резком уменьшении микровязкости липидной фазы, до состояния характерного при патологиях, т.е. ТНКЖ-тио в концентрации 10^{-4} М проявлял токсическое действие на митохондрии. Антиоксидантная активность ресвератрола в дозе 10^{-6} М частично компенсировала токсическое действие ТНКЖ-тио. Следовательно, в этом случае токсическое действие, вероятнее всего, связано с проявлением прооксидантных свойств высоких концентраций NO, высвобождаемых из ТНКЖ-тио. Ресвератрол в концентрациях $2 \cdot 10^{-5}$ М и 10^{-8} М практически не повлиял на структурное состояние мембран митохондрий, выделенных из эпикотилей проростков гороха, обработанных ТНКЖ-тио 10^{-4} М.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОВМЕСТНОГО ДЕЙСТВИЯ РЕСВЕРАТРОЛА И СЕРАНИТРОЗИЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА С ТИОСУЛЬФАТОМ НА СТРУКТУРУ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ МЕМБРАН ЭПИКОТИЛЕЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА

Герасимов Н.Ю., Неврова О.В., Жигачева И.В., Голощапов А.Н.

*Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля
Российской академии наук, 119334 ул. Косыгина, 4, г. Москва, Россия. E-mail: n.yu.gerasimov@gmail.com*

Ранее нами было показано, что донор оксида азота (NO) натрий- μ 2-дитиосульфатотетранитрозилдиферрат тетрагидрат (ТНКЖ-тио) в концентрации 10^{-4} М сдвигал термоиндуцированные структурные переходы в мембранах митохондрий в сторону более низких температур. Такие сдвиги указывают на уменьшение степени «кристалличности» мембран. ТНКЖ-тио в дозе 10^{-4} М на всем исследованном температурном интервале приводил к резкому уменьшению микровязкости липидной фазы митохондриальных мембран, которая не зависела от температуры. Такое состояние мембран, обычно, связывают с патологиями, а действие ТНКЖ-тио на митохондрии можно охарактеризовать как токсическое. Считается, что оксид азота в больших концентрациях ($>10^{-6}$ М) оказывает цитотоксическое действие, а в малых физиологических концентрациях NO обладает цитопротекторным действием, выступая в качестве регуляторного агента и проявляя, в том числе, антиоксидантные свойства. Такой двойственный эффект от воздействия препарата на клеточные мембраны может быть интересен при изучении возможности усиления антиоксидантных способностей с помощью взаимодействия нескольких веществ антиоксидантного статуса. Поэтому было исследовано действие ресвератрола в различных концентрациях на структуру мембран митохондрий эпикотилей проростков гороха, обработанных ТНКЖ-тио в концентрации 10^{-8} М. Было показано, что ресвератрол в концентрациях 10^{-6} и 10^{-8} М снижал микровязкость как липидной, так и при белковой областей мембран митохондрий. Одновременное снижение микровязкости при белковой и липидной фаз говорит о нарушении связей в системе регуляции пероксидного окисления липидов мембран. По-видимому, в данном случае ресвератрол увеличивал антиоксидантную активность малой физиологической дозы ТНКЖ-тио, приводя тем самым к антиоксидантному стрессу. Такой эффект антиоксидантов связан с негативным действием на клетку и может приводить к накоплению свободнорадикальных частиц, токсичных в больших количествах. Из-за слишком большой концентрации, $2 \cdot 10^{-5}$ М, ресвератрол проявлял, вероятно, взаимонейтрализующие антиоксидантно-прооксидантные свойства, так как практически не влиял на микровязкость мембран митохондрий, выделенных из эпикотилей проростков гороха, обработанных ТНКЖ-тио 10^{-8} М. Лишь немного сдвигал термоиндуцированные структурные переходы в липидном бислое в область более высоких температур.

NT-1505 В СВЕРХМАЛОЙ ДОЗЕ ИЗМЕНЯЛ ТОЛЩИНУ МЕМБРАН СИНАПСОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШЕЙ В НОРМЕ *IN VIVO*

Герасимов Н.Ю., Кривандин А.В., Пастухов А.А., Голощапов А.Н.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля
Российской академии наук, 119334 Россия, г. Москва, ул. Косыгина, 4
E-mail: n.yu.gerasimov@gmail.com

Известно, что при развитии болезни Альцгеймера происходят существенные изменения структуры мембран, что, в свою очередь, приводит к нарушениям функционирования многих систем. Поэтому мы считаем, что структурные изменения в липидном бислое играют определяющую роль при развитии деменции альцгеймеровского типа. При подборе терапии большое значение имеет действие препаратов на структурное состояние мембран.

Целью работы было изучение действия перспективного нейропротектора NT-1505 в сверхмалой дозе 10^{-14} моль/кг на структуру липидного бислоя синапсом, выделенных из мозга мышей *in vivo*.

Методом рентгено-структурного анализа было показано, что NT-1505 приводит к изменению структуры мембран синапсом, о чем можно судить по качественному изменению дифрактограммы. Расчет профиля электронной плотности показал, что введение NT-1505 приводило к уменьшению толщины синапсомальной мембраны на ~12%.

Также, методом масс-спектрометрии было показано изменение жирнокислотного состава липидов мембран синапсом головного мозга мышей, при хроническом введении NT-1505 в сверхмалой дозе. Введение нейропротектора в дозе 10^{-14} моль/кг значительно изменяло жирнокислотный состав фосфатидилинозитолов, из которых исчезли наиболее ненасыщенные хвосты. В составе сфингомила появлялись короткие жирнокислотные хвосты (16:0), у фосфатидилхолинов длинные хвосты (16:1 – 22:4 и 18:0 – 22:6) заменялись более короткими (16:0 – 18:2 и 16:0 – 18:1), а у фосфатидилглицеринатов появлялись длинные ненасыщенные жирнокислотные хвосты (22:5, 22:6). Через 7 суток нейропротектор приводил к увеличению количества арахидоновой кислоты и практически не изменял количество миристиновой, пальмитиновой и стеариновой кислот.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ АТФ-ЗАВИСИМОЙ АКТИВАЦИИ АСТРОЦИТОВ КРЫСЫ *IN VITRO*

Горбачева Л.Р.^{а,б}, Иванова А.Е.^в

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: gorb67@mail.ru

^б ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский Университет),

Россия, 117513, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1, стр. 6,

^в ФГБУ НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России,
Россия, 117997, Москва, ул. академика Опарина, д. 4.

При повреждениях мозга в межклеточной среде возрастает уровень аденозинтрифосфат (АТФ). С учетом того, что астроциты экспрессируют широкий спектр пуриновых рецепторов (P2), большое значение имеет понимание механизма активации астроглии АТФ.

В связи с этим, мы оценили АТФ-зависимую активацию астроцитов в культуре, проанализировав возможность вовлечения в этот процесс отдельных типов P2.

Работа выполнена на первичной культуре астроцитов, выделенных из мозга новорожденных крысят. Астроциты инкубировали с бензоил-АТФ в разных концентрациях (100-500 мкМ) и оценивали выживаемость с помощью МТТ-теста, секрецию NO (реактив Грисса), TNF- α , IL-6 (ELISA), активацию NF- κ B и экспрессию белков Bcl-2, Bax (WB), экспрессию мРНК iNOS (ПЦР), как в условиях изолированного действия АТФ, так и на фоне блокады P2 с помощью PPADS, A438079, BFG и блокады NOS с использованием L-NAME.

Нами обнаружено P2X7-зависимое снижение выживаемости астроцитов под действием высокой концентрации АТФ, при этом механизм клеточной гибели был апоптоз-независимым. Обработка астро-

цитов АТФ стимулировала синтез NO, обусловленный индукцией экспрессии iNOS, также наблюдалось значимое возрастание секреции TNF- α , IL-6 и активации NF- κ B в астроцитах по сравнению с контролем. С помощью селективных и неселективных антагонистов P2 было обнаружено, что провоспалительная активация и секреция первичных астроцитов обусловлена активацией P2, отличных от рецептора P2X7.

Таким образом, АТФ, появляясь в тканях мозга при повреждении, потенцирует как гибель клеток механизмом некроза, так и распространение воспалительного процесса, что опосредовано разными типами P2.

МЕХАНИЗМЫ ПРОТЕОТОКСИЧНОСТИ МУТАНТНОГО ХАНТИНГТИНА В РАМКАХ НЕЙРОНАЛЬНОЙ КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ХАНТИНГТОНА

Готманова Н.Н., Бачева А.В.

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия,
119991, Москва, Ленинские горы, д. 1,3, химический факультет
электронная почта: got.natalia@gmail.com*

Болезнь Хантингтона (БХ) – наследственное неизлечимое нейродегенеративное заболевание, связанное с избирательной гибелью ГАМК-эргических нейронов в стриатуме мозга¹. Заболевание обусловлено мутацией в гене *HTT*, кодирующем белок хантингтин (Htt). Мутантный хантингтин (mHtt) содержит 36 или более остатков глутамина в составе непрерывного полиглутаминового тракта, который закодирован в первом экзоне *HTT*. В норме хантингтин координирует ряд жизненно важных процессов в цитоплазме и ядрах нейронов². Мутантный хантингтин склонен к образованию малорастворимых внутриклеточных агрегатов, которые могут вызывать протеостатический коллапс в нейронах, их дисфункцию и гибель³.

При исследовании механизмов БХ важной задачей является выбор корректной модели заболевания, способной отразить широкий спектр патологических молекулярных процессов. Данная работа посвящена оптимизации ранее созданной нами модели БХ на основе линии мышины нейробластомы Neuro-2a с экспрессией полноразмерного mHtt. Применение данной модели позволило исследовать влияние экспрессии mHtt на протекание аутофагии – одного из основных путей утилизации агрегатов белка. По результатам оценки содержания (методом Вестерн-блоттинга) ключевых маркеров ГАМК-эргических нейронов стриатума (DARPP32, ГАМК, FOXP1) подобраны оптимальные условия дифференцирования клеток в нейроноподобную культуру. В дифференцированных клетках с помощью теста МТТ показана цитотоксичность mHtt, а также ее изменение в присутствии ряда протекторных соединений, при ингибировании протеасомы или аутофагии. В аналогичных условиях для определения интенсивности апоптоза, индуцируемого mHtt, был использован метод количественной ПЦР с обратной транскрипцией.

Литература

1. Bates G.P., et al., Nat Rev Dis Primers 2015, 1, 15005.
2. Saudou F., et al., Neuron 2016, 89, 910-926.
3. Jurcau A., Biomedicines 2022, 10, 1432.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 25-24-00260.

ЭВОЛЮЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ БЕЛКОВ CD1 ГРЫЗУНОВ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ИММУНИТЕТ

Гунбин К.В.^{а,б}, Копейна Г.С.^{в,г}, Животовский Б.Д.^{в,г,д}, **Замараев А.В.^{в,г}**

^а Центр митохондриальной функциональной геномики, Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград, Россия

^б Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

^в Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

^г Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

^д Каролинский институт, Стокгольм, Швеция

электронная почта: a-zamaraev@ya.ru

Клеточная адаптивная иммунная система зависит от антигенпрезентирующих молекул и их взаимодействия с Т-клетками. Члены семейства кластера дифференцировки (CD1) презентуют липидные антигены специфическим CD1-направленным Т-лимфоцитам. Число генов CD1 широко варьируются среди различных видов млекопитающих. Анализ отряда грызунов показал высокое эволюционное разнообразие в семействе белков CD1. Мышеобразные — наиболее дивергентная и эволюционно новая группа грызунов. Подотряд Дикобразообразных и Белкообразных — наиболее консервативная группа, содержащая почти все типы генов CD1. Однако, голый землекоп содержит функциональные гены только CD1a и CD1c, в отличие от соседнего представителя — Дамарского пескороя и других видов в подотряде Дикобразообразных. Недавние исследования выявили уникальную особенность иммунной системы голого землекопа: отсутствие канонических естественных клеток-киллеров (NK) и естественных Т-клеток киллеров (NKT)¹. Учитывая незаменимую роль CD1d в развитии NKT-клеток², по-видимому, в ходе эволюции ось CD1d/NKT была утрачена в иммунной системе землекопа. Сравнительное исследование иммунитета голых землекопов и мышей выявило, что доля макрофагов селезенки и их функциональная активность выше у голых землекопов. Большинство макрофагов голого землекопа в наивном состоянии экспрессируют NK1.1, поверхностный антиген NK клеток³. Более того у голого землекопа имеется большая популяция γδ Т-клеток с NK-подобным цитотоксическим эффекторным фенотипом. Вероятно, иммунная система голого землекопа компенсирует потерю NKT и NK-клеток за счёт стимуляции миелоидных клеток и распространённости NK-подобных γδ Т-клеток⁴.

Литература

1. Hilton HG, et al., *PLoS Biol.* 2019, **17**, e3000528
2. Exley MA, et al., *Immunology* 2003, **110**, 519–26.
3. Wada H, et al., *Sci Rep.* 2019, **9**, 17981
4. Sanchez Sanchez G, et al., *Nat Commun.* 2024, **15**, 4248

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-74-30006.

БИОКАТАЛИТИЧЕСКОЕ ПОЛУЧЕНИЕ ЭНАНТИОМЕРОВ АМИНОСОЕДИНЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕАКЦИЙ АЦИЛИРОВАНИЯ/ДЕАЦИЛИРОВАНИЯ, КАТАЛИЗИРУЕМЫХ ПЕНИЦИЛЛИНАЦИЛАЗАМИ В ВОДНОЙ СРЕДЕ

Гуранда Д.Ф., Швядас В.К.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д.1, стр.73

электронная почта: vyttas@belozersky.msu.ru

Эффективный синтез амидной связи является актуальной задачей зеленой химии. В живых системах для таких реакций необходим АТФ, в инженерной энзимологии в качестве катализатора можно использовать гидролазы, способные переносить ацильную группу от сложных эфиров/амидов кислот на аминокислоты^{1,2}. Эффективное ацилирование аминокислот при высоких концентрациях реагентов с использованием пенициллинацилаз (ПА) возможно в водной среде, когда перенос ацильной группы протекает быстрее гидролиза образующегося амида или продукт синтеза выводится из сферы реакции. ПА обладают высокой стереоселективностью по отношению к аминокислотам как нуклеофилам, что делает возможным препаративный синтез индивидуальных энантиомеров. С

использованием ПА получены энантиомеры альфа- и бета-аминокислот, аминокспиртов и первичных аминов как при стереоселективном ацилировании рацематов, полученных химическим синтезом, так и при стереоселективном гидролизе N-ацилированных производных аминокислот. Получены биокатализаторы (ПА из *Alcaligenes faecalis*, мутанты ПА из *E. coli*), стабильные в щелочной среде, необходимой для эффективного ацилирования аминокислот, аминокспиртов, первичных аминов, в то время как при ацилировании сложных эфиров аминокислот (pKa 7,5-8) можно использовать ПА из *E. coli* дикого типа. Эффективному ацилированию первичных аминов в водной среде способствует низкая растворимость продуктов синтеза, что позволяет достичь выходов близких к количественным даже при эквимольных соотношениях исходных субстратов. Благодаря хемо- и региоселективности ПА, синтезированы ранее неизвестные энантиомерно чистые тиолы (N-ацильные производные (S)-Cys), позволившие расширить возможности хирального ВЭЖХ-анализа аминокислотных соединений.

Литература

1. Варфоломеев С.Д., Швядас В.К., Ефременко Е.Н. и др. Биокатализ: современные проблемы и приложения. Успехи химии, 2024, 93(12), RCR5144.
2. Панин Н.В., Гуранда Д.Ф., Шаповалова И.В., Швядас В.К. Пенициллинацилаза: ретроспектива изучения кинетики и термодинамики практически значимых реакций. Вестник Московского университета. Серия 2: Химия, 2023, 64(4), 334-352.

ТРАНСКРИПТОМНЫЕ ЧАСЫ ВЫЯВЛЯЮТ УНИВЕРСАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ, ЗАБОЛЕВАНИЙ И ОМОЛОЖЕНИЯ

Давитадзе М.С.^а, Дмитриев С.Е.^{а,б}, Тышковский А.Э.^{б,в}

^а Факультет биоинженерии и биоинформатики и

^б НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,

^в Женская больница Бригема, Гарвардская медицинская школа, США, 02115, Бостон,

электронная почта: maria.davitadze@mail.ru

Старение является ключевым фактором, влияющим на риск смертности и развитие хронических заболеваний. Для противодействия механизмам старения активно разрабатываются интервенции, направленные на продление жизни. Однако универсальные механизмы, связывающие старение, возрастные заболевания и интервенции, влияющие на продолжительность жизни, до сих пор не изучены.

Для решения этой задачи мы разработали мульти-тканевые транскриптомные часы старения, позволяющие оценивать хронологический возраст, а также ожидаемую смертность млекопитающих по данным генной экспрессии¹. Транскриптомные часы выявили универсальные возрастные изменения, происходящие в различных типах клеток, а также у различных видов млекопитающих: мышей, крыс, обезьян и человека. Кроме того, мы создали модульные часы, оценивающие роль определенных молекулярных путей в старении и регуляции смертности.

Чтобы изучить универсальные механизмы старения и омоложения, мы применили часы к модельным возраст-зависимым заболеваниям и прогерии, а также к данным гетерохронного парабиоза, клеточного репрограммирования и раннего эмбриогенеза, для которого ранее на уровне эпигенетических часов было показано омоложение². Мы оценили вклад отдельных генов и ключевых клеточных путей, влияющих на изменение биологического возраста в каждом из перечисленных процессов. Среди наиболее универсальных биомаркеров старения, хронических заболеваний и омоложения оказались гены *Cdkn1a* и *Lgals3*. Полученные данные расширяют наши представления о процессах старения и открывают новые перспективы для разработки стратегий, направленных на продление жизни.

Литература

1. Tyshkovskiy A, et al., *bioRxiv* 2024, doi.org/10.1101/2024.07.04.601982.
2. Kerepesi et al., *Sci Adv*, 2021, **7(26)**, eabg6082.

Работа группы поддержана финансированием в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова.

ТРАНКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ ЭФФЕКТОРНОЙ ФАЗЫ ИММУНОГЕННОЙ ГИБЕЛИ КЛЕТОК ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Замараев А.В.^{а,б}, Мамедова А.Р.^{а,б}, Копейна Г.С.^{а,б}, Животовский Б.Д.^{а,б,в}

^а Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

^б Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

^в Каролинский институт, Стокгольм, Швеция

электронная почта: a-zamaraev@ya.ru

Различные формы программируемой гибели клеток (ПГК) демонстрируют различную способность стимулировать адаптивный иммунитет благодаря своим различным молекулярным и морфологическим особенностям¹. Некротические формы ПГК, такие как некроптоз и пироптоз, являются иммуногенными, выделяя адьювантные сигнальные молекулы, известные как молекулярные паттерны, связанные с повреждением (DAMPs)². В ходе анализа экспрессионных данных генов, регулирующих эффекторную фазу процессов иммуногенной гибели клеток, на основании БД METABRIC и TCGA рака молочной железы (PMЖ) было обнаружено, что повышенная экспрессия генов, связанных с порообразованием — GSDMB, GSDMC и MLKL — в тройном негативном и HER2-позитивном подтипах PMЖ коррелирует с высокой экспрессией иммунных регуляторных генов и инфильтрацией клеток адаптивного иммунитета. Это позволяет определить эти подтипы как «иммунные горячие» опухоли. Более того, тройной негативный PMЖ характеризовался высоким уровнем экспрессии иммуногенных молекул DAMPs (например, кальретикулин, IL1b), что делает его наиболее чувствительным к иммунотерапии. В HER2-позитивном подтипе PMЖ экспрессия DAMPs также была повышена, хотя и в меньшей степени, что может объяснять умеренную чувствительность к иммунотерапевтическим подходам. В то же время в люминальных подтипах (А и В) наблюдалась низкая экспрессия DAMPs и слабая инфильтрация иммунных клеток, что подчеркивает их «иммунно-холодный» фенотип и необходимость разработки стратегий для усиления иммуногенности.

Литература

1. Sikou Shen et al., *Cell Death Discovery* 2023, **9**, 284.
2. Nagata, S., et al., *Nature Reviews Immunology* 2017, **17**, 333–340.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-75-00011.

ДЕЙСТВИЕ ФТОРХИНОЛОНОВ НА МИТОХОНДРИИ И СЕНЕСЦЕНТНЫЙ ФЕНОТИП ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА

Зиновкин Р.А.

НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
119992 Москва, Россия
электронная почта: rzinovkin@yandex.ru

Фторхинолоны — эффективные синтетические антибиотики широкого спектра действия. Но несмотря на свою клиническую эффективность, фторхинолоны могут вызывать тяжелые побочные эффекты, такие как повреждения печени, сердечной мышцы и сухожилий. В данной работе было исследовано действие трех антибиотиков группы фторхинолонов (ципрофлоксацина, моксифлоксацина и левофлоксацина) на первичную культуру фибробластов человека при продолжительной инкубации. Моксифлоксацин и левофлоксацин уменьшали относительное количество мтДНК в фибробластах, тогда как ципрофлоксацин не вызывал таких изменений. Также было обнаружено разнонаправленное действие ципрофлоксацина, моксифлоксацина и левофлоксацина на изменение экспрессии маркеров сенесцентного фенотипа *IL-1b*, *IL-6*, *p21* и *CXCL2*. Кроме того, было показано, что ципрофлоксацин вызывает увеличение «индекса старения» (senescence index) фибробластов в отличие от моксифлоксацина и левофлоксацина. Полученные данные могут помочь объяснить механизмы токсичности используемых в медицинской практике фторхинолонов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 25-24-00307.

БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ АТФ-СИНТАЗЫ *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

Зубарева В.М.^{а,б}, Лапашина А.С.^{а,б}, Фенюк Б.А.^{а,б}

^а Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

^б Факультет биоинженерии и биоинформатики, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

АТФ-синтаза является важнейшим биоэнергетическим ферментом эукариот и бактерий и обеспечивает процессы синтеза/гидролиза АТФ в клетке, сопряженные с трансмембранным переносом протона или натрия. Чаще всего АТФ-синтаза выступает в роли синтазы и синтезирует АТФ, используя энергию трансмембранного потенциала, однако для *Streptococcus pneumoniae* предполагается, что фермент является единственным генератором трансмембранного протонного потенциала, который необходим бактериям для обеспечения в первую очередь транспорта веществ через клеточную мембрану¹. Стоит отметить, что для *S. pneumoniae* с использованием метода множественного выравнивания последовательностей и анализа известных структурных моделей было предположено наличие второго кислого остатка в сайте связывания протона на интерфейсе взаимодействия субъединицы *a* и *c*-кольца, что является необычным, так как чаще всего в данной позиции присутствует незаряженная, а часто и гидрофобная аминокислота. Это позволяет предположить, что свойства АТФ-синтазы *Streptococcus pneumoniae* могут отличаться от свойств ранее исследованных организмов, в первую очередь, по оптимуму pH, а также, возможно, по скорости протонного транспорта и эффективности сопряжения.

Мы получили синтетическую генетическую конструкцию, содержащую оперон АТФ-синтазы *S. pneumoniae*, получили очищенный препарат фермента. С использованием протеолипосом мы изучили влияние разобщителя на АТФазную активность фермента, а также изучили pH-зависимость его АТФазной активности. Полученные результаты позволяют нам предположить, что выделенный белок является сопряженным, что позволяет в дальнейшем изучать его протонный транспорт.

Литература

1. Zubareva VM, Lapashina AS, Shugaeva TE, Litvin AV, Feniouk BA. Rotary Ion-Translocating ATPases/ATP Synthases: Diversity, Similarities, and Differences. *Biochemistry (Mosc)*. 2020;85: 1613–1630.

ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ИОНОВ ЛИТИЯ НА ЛИМФОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА

Зубрицкая Г.П.

Государственное научное учреждение «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,
Беларусь, 220012, Минск, Академическая, 27
электронная почта: petro371@mail.ru

Препараты лития в разных формах применяют в психиатрии, неврологии, трансплантологии и онкологии. При длительном применении их происходит накопление данного элемента в клетках крови, что может привести к токсическому эффекту и влиянию на лимфоциты. В литературе имеются противоречивые данные о влиянии Li^+ на продукцию активных форм кислорода (АФК) в клетках – в кардиомиоцитах литий повышает уровень АФК и вызывает окислительный стресс, а на нейронах клеточной линии РС5 в условиях окислительного стресса обнаружен протекторный эффект Li^+ . Вопрос о влиянии солей лития на уровень АФК в лимфоцитах недостаточно изучен. Цель данной работы – изучить влияние ионов лития на уровень АФК, экспрессию белка-транспортера Р- гликопротеина (Р-gp) и активность глутатионтрансферазы (GST) в лимфоцитах периферической крови человека *in vitro*. Лимфоциты были получены в градиенте плотности гистобака и подвержены воздействию сульфата и хлорида лития в токсических (6 и 10 мМ) концентрациях. Уровень АФК в лимфоцитах оценивали с использованием флуоресцентных зондов, а экспрессию Р-gp при помощи моноклональных антител на проточном цитофлуориметре. Получены экспериментальные доказательства литий-индуцированных изменений редокс-статуса лимфоцитов, включающие повышение уровня АФК на фоне снижения концентрации глутатиона и ингибирования активности глутатионтрансферазы. Обнаружено, что содержание Р-gp на поверхности плазматических мембран лимфоцитов доноров, подверженных токсическим концен-

трациями ионов лития, увеличено по сравнению с контролем (не обработанных солями лития), что может указывать на активацию экспрессии P-гр, который способен участвовать в процессах детоксикации клетки. Данные результаты могут быть использованы при создании тест-системы для определения токсичности лития.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ, проект Б23-107.

ДЕЙСТВИЕ СОЛЕЙ ДИЭТИЛАМИНОФОСФОНΙΑ НА МИТОХОНДРИИ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ

Иващенко М.В.^а, Кувырченкова А.П.^б, Голева Т.Н.^б, Рогов А.Г.^б

^аМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: tariya300303@gmail.com

^бНациональный исследовательский центр «Курчатовский институт», Россия, 123182, Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1.

Чрезмерная продукция активных форм кислорода (АФК) в результате дисбаланса между образованием и удалением АФК часто приводит к окислительному повреждению компонентов клеток и окислительному стрессу¹. Для борьбы с окислительным стрессом используют антиоксиданты, которые нейтрализуют свободные радикалы и защищают клеточные компоненты. Наиболее эффективными веществами для борьбы с повреждениями, вызванными повышенной генерацией АФК, являются митохондриально-направленные антиоксиданты, такие как MitoQ и SkQ, содержащие катион трифенилфосфония с распределенным зарядом^{2,3}, придающий молекуле митохондриальную направленность.

В работе проведено комплексное сравнительное исследование действия производных диэтиламино- и фенилфосфония с разным количеством замещающих групп и алифатической цепью различной длины на энергетические параметры изолированных митохондрий печени крысы. Показано, что катионы являлись разобщителями, деполаризовали внутреннюю мембрану митохондрий, не проявляли специфического действия на комплексы дыхательной цепи и АТФ-синтазу и снижали скорость генерации митохондриями пероксида водорода.

Рассмотренные субстанции различались по разобщающему и деполаризирующему действию в зависимости от длины алифатической цепи, а их промотирующее действие на открытие неспецифической митохондриальной поры зависело от количества диэтиламиновых групп.

Литература

1. Rogov, A.G., et al., Propagation of Mitochondria-Derived Reactive Oxygen Species within the *Dipodascus magnusii* Cells. *Antioxidants* 2021, **10**, 120.
2. Dashdorj A., et al., Mitochondria-targeted antioxidant MitoQ ameliorates experimental mouse colitis by suppressing NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory cytokines. *BMC Med* 2013, **11**, 1-13.
3. Shinn L. J., Lagalwar S., Treating neurodegenerative disease with antioxidants: Efficacy of the bioactive phenol resveratrol and mitochondrial-targeted MitoQ and SkQ. *Antioxidants* 2021, **10**, 573.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

РОЛЬ ЛИЗОСОМ В КЛЕТОЧНОМ СТАРЕНИИ: ОПТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ВЛИЯНИЯ МЕТФОРМИНА, РАПАМИЦИНА, ТОРИНА НА АКТИВНОСТЬ V-АТРАСЕ

Ильинский Н.С.^а, Добрынин Н.С.^а, Алехин В.А.^а, Павлов В.В.^а, Бухалович С.М.^а, Багаева Д.Ф.^а, Назарова С.Ф.^а, Гизатуллина Д.Р.^а, Лопатина Е.Т.^а, Нестеров С.В.^а, Корнилов Д.А.^а, Горделий В.И.^б

^аЦентр исследований молекулярных механизмов старения и возрастных заболеваний Московского физико-технического института, Первомайская 3, Долгопрудный, Московская область, 141701, Россия, электронная почта: ilinsky@phystech.edu

^бИнститут структурной биологии (IBS) Университета Гренобль-Альпы, Гренобль, 38000, Франция.

Перспективными препаратами для продления жизни являются метформин¹, рапамицин². Их эффек-

тивность была доказана на модельных организмах, в настоящее время проводятся крупномасштабные испытания на людях (MET-PREVENT, TAME и др.). Воздействуя на AMPK и mTORC1 соответственно, метформин и рапамицин/торин замедляют рост клеток, активируют аутофагию. Необходимо усиливать аутофагию также через нормализацию работы лизосом, ослабляющуюся с возрастом.

В нашей работе показана эффективность оптогенетики в контроле лизосом. Оптогенетическое изменение лизосомного pH также позволяет определять активность V-ATPase (естественного лизосомного закислителя). Продемонстрирован двуступенчатый механизм действия метформина в клетках. В первые 24 часа происходит ингибирование vATPase, проявляющееся в замедлении закисления лизосом после оптогенетического подщелачивания. Затем происходит активация AMPK³, vATPase и аутофагии. Такое поведение клеток в ответ на метформин демонстрирует важную роль лизосом в перестройке метаболизма на «режим долгожителя». Оптогенетический контроль активности лизосом открывает новые перспективы в изучении механизмов старения и, потенциально, в поиске эффективных средств замедления этого процесса.

Литература

1. Anisimov V.N., et al., *Aging (Albany NY)* 2011, **3**, 148-157.
2. Campisi J., et al., *Nature* 2019, **571**, 183-192.
3. Xie C., et al., *Nature* 2022, **603**, 159-165.

Оптогенетические эксперименты выполнены за счет гранта РФФИ, проект 21-64-00018. Экспрессия родопсинов выполнена за счёт проекта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение # 075-03-2024-117, проект FSMG-2024-0012).

ДЕПРИВАЦИЯ ГЛУТАМИНА ВЛИЯЕТ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛЕТОК ГЛИБЛАСТОМЫ К ТЕРАПЕВТИЧЕСКИМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ

Исакова А.А.^{а,б}, Дружкова И.Н.^в, Мазур Д.В.^б, Антипова Н.В.^б,
Краснов К.С.^г, Фадеев Р.С.^г, Гаспарян М.Э.^б, Яголович А.В.^а

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: alina.labbio@gmail.com

^б ГНЦ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, Россия

^в Приволжский исследовательский медицинский университет, 603081, Нижний Новгород, Россия

^г Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
142290, Пущино, Московская обл., Россия

Концентрация глутамина играет важную роль в метаболизме опухолей. Было исследовано влияние депривации глутамина на клеточный метаболизм и чувствительность клеток глиобластомы человека U87MG и T98G к различным препаратам: темозоломиду; DR5-B — агонисту рецептора DR5 на основе цитокина TRAIL, и GMX1778 — ингибитору NAMPT. Было показано, что клетки U87MG имеют более дифференцированный фенотип, чем T98G, и отличаются по профилю экспрессии генов, связанных с метаболизмом глутамина. При депривации глутамина в клетках U87MG повышалась экспрессия ингибиторов циклин-зависимых киназ p21 и p27, и маркера стволовости CD133. Также наблюдался сдвиг метаболизма в сторону гликолиза как по увеличению продукции лактата, так и по данным метаболического имиджинга аутофлуоресценции NADH с помощью FLIM-микроскопии. При этом возросла чувствительность клеток U87MG к DR5-B, коррелируя с экспрессией рецептора DR5, и, напротив, устойчивость к GMX1778, коррелируя со сдвигом метаболизма в сторону гликолиза. Однако в клетках T98G депривация глутамина, наоборот, вызывала снижение экспрессии DR5 и устойчивость к DR5-B, а также сдвиг в сторону окислительного фосфорилирования и сенсбилизацию к GMX1778. Таким образом, ввиду фенотипических и метаболических отличий между двумя клеточными линиями глиобластомы, депривация глутамина вызывала контрастные ответы на воздействие препаратами различной природы¹.

Литература

1. Isakova A.A., et al., *Biochemistry (Mosc.)*. 2024, **89(10)**, 1744-1758.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 24-24-00222.

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ КАРДИОЛИПИН И СПЕКТР КАТАЛИТИЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ ЦИТОХРОМА С

Каган В.Е.^а, Байир Х.^б

^а Отделение радиационной онкологии, Питтсбургский университет, PA 15213 (США), Отделение химии, Питтсбургский университет, PA 15260 (США) и Отделение фармакологии и биохимии, Питтсбургский университет, PA 15261 (США)

^б Отделение критических медицинских состояний, Сафар центр реанимационных исследований, Детский институт нейронаук, Педиатрический госпиталь Питтсбурга, Питтсбургский университет, PA 15213 (США)
электронная почта: kagan@pitt.edu

Нам посчастливилось познакомиться с Грандиозностью великого ученого и великого человека Владимира Скулачева. Один из нас (В.Е.Каган) познакомился с Володей в МГУ в 1960-е годы, и постепенно наше общение переросло в дружбу. Научное общение было сфокусировано на обсуждении взаимодействий липид/белок в митохондриях.

Цитохром с (Cyt c) известен в основном благодаря своим двум основным функциям: i) как мобильный переносчик электронов между дыхательными комплексами III и IV, и ii) как активатор формирования апоптосомы в ходе этого типа регуляции клеточной смерти. Были указания на еще одну функцию Cyt c, связанную с его взаимодействием с анионными молекулами, особенно с анионным фосфолипидом, кардиолипином (CL) и его метаболитами. Мы предположили, что взаимодействие может иметь биологический смысл – появление у Cyt c новой функции пероксидазы (2005). Мы расшифровали и подробно описали условия, необходимые для этого крутого изменения каталитической компетенции комплекса цит С/CL и его значение в апоптозе. Также мы изучили роль NDPKD как потенциального переносчика CL из внутренней во внешнюю мембрану митохондрий. В контексте повреждения митохондрий, связанного с редким заболеванием, синдромом Барта (СБ), мы недавно обнаружили (2023), что процесс ремоделирования CL, происходящий с участием трансацилазы TAZ, крайне уязвим к мутациям в кодирующем гене, что приводит к кардиомиопатии, потере мышечной выносливости и другим проявлениям. В одной из недавних работ мы описали гипотетический новый механизм патогенеза, при котором моно-лизо-CL (MLCL), накапливаясь при СБ может, подобно CL, хотя и с несколько меньшей эффективностью, также превращать Cyt c в пероксидазу, тем самым генерируя продукты перекисного окисления из CL/MLCL и других легко окисляемых полиненасыщенных фосфолипидов. Это может способствовать появлению нового поколения терапевтических методов лечения СБ.

Хотя Володя (В.П.Скулачев) не участвовал напрямую в этих исследованиях, мы всегда находились под влиянием его оригинальных идей и подходов.

СЕЛЕКТИВНОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ TRPV3 КЕРАТИНОЦИТОВ ПОДАВЛЯЕТ ЗУД В МЫШИНЫХ МОДЕЛЯХ

Калиновский А.П.^{а*}, Паликов В.А.^б, Паликова Ю.А.^б, Королькова Ю.В.^а, Дьяченко И.А.^б, Андреев Я.А.^а

^а Государственный научный центр РФ Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10

*электронная почта: kalinovskii.ap@gmail.com

^б Филиал Государственного научного центра РФ Института биорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, 142290, Пущино, пр-т Науки, д. 6

TRPV3 – термо- и хемочувствительный катионный канал, играющий важную роль в физиологии кожного покрова. Гиперактивация TRPV3 сопряжена с иммунным ответом, вовлекающим тучные клетки и выброс гистамина, и проявляется в виде хронического кожного воспаления, разрушения волосяного покрова, боли и зуда. Изоформы TRPV3 с мутациями, усиливающие функцию канала, связаны с наследственными кожными заболеваниями. Также показано, что экспрессия TRPV3 повышена в биопсиях послеожоговых шрамов и кожи с атопическим дерматитом¹. Ранее нами было установлено, что природный дитерпеноид лабданового типа 14-дезоксидеидегидроандрографолид (ДДА) ингибирует активацию TRPV3, не действуя на близкородственные каналы TRPV1, TRPV4 и TRPA1. В данной работе мы установили, что ДДА также ингибирует активацию карвакролом эндогенных TRPV3 в клеточной линии кератиноцитов человека HaCaT с IC₅₀ 0.85 μM, не проявляя токсичности для клеток в концентрации до 100 μM. Далее мы оценили противозудный потенциал ДДА в мышечных моделях. При внутрикожном введении ДДА подавлял зуд, вызванный специфическим активато-

ром TRPV3 карвакролом, уменьшая число приступов расчесываний у экспериментальных животных. Также в условиях зуда, вызванного гистамином, ДДА в концентрациях 0.3-30 μM подавлял приступы расчесываний у мышей, проявляя эффект на уровне клинического блокатора H1-рецепторов лоратадина. Эти результаты указывают на перспективность селективного воздействия на TRPV3-связанные сигнальные пути для коррекции кожного зуда².

Литература

1. Kalinovskii, A. P.; Utkina, L. L.; Korolkova, Y. V.; Andreev, Y. A., *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, p 8601.
2. Kalinovskii, A. P.; Logashina, Y. A.; Palikova, Y. A.; Palikov, V. A.; Osmakov, D. I.; Mineev, K. S.; Belozerova, O. A.; Shmygarev, V. I.; Kozlov, S. A.; Dyachenko, I. A.; Korolkova, Y. V.; Andreev, Y. A., *J. Nat. Prod.*, 2024, **87** (7), 1852–1859.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ, БЕТУЛИНА И ИХ МИТОХОНДРИАЛЬНО-НАПРАВЛЕННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НА МИТОХОНДРИИ ДРОЖЖЕЙ *YARROWIA LYPOLYTICA*

Качанова М.А.^а, Голева Т.Н.^б, Рогов А.Г.^б

^аМосковский физико-технический институт, Россия, 141701, Долгопрудный, Институтский переулок, 9.
E-mail: mk.lightman@mail.ru

^бНациональный исследовательский центр «Курчатовский институт», Россия, 123182, Москва, пл. Академика Курчатова, 1.

На сегодняшний день главным признаком онкогенеза считается измененный метаболизм, поскольку он регулирует ключевые биосинтетические и биоэнергетические процессы, необходимые для выживания опухолей. Митохондрии обеспечивают раковые клетки платформой для контроля выработки и высвобождения активных форм кислорода, изменяют продукцию АТФ и НАДФН, регулируют гомеостаз кальция и участвуют в аутофагических процессах и клеточной гибели¹. Поэтому многообещающей стратегией противораковой терапии может стать использование новых прооксидантов, нацеленных на митохондрии. Впервые митохондриально-направленные молекулы, имеющие положительный заряд, стал разрабатывать В.П.Скулачев.

В НИЦ «Курчатовский институт» мы исследовали действие ацетилсалициловой кислоты (АК), бетулина и их митохондриально-направленных производных на клетки дрожжей *Yarrowia lipolytica*. АК и бетулин имеют природное происхождение и уже зарекомендовали себя, как противораковые агенты². Митохондриально-адресованные вещества содержат трифенилфосфоний в качестве катиона, проникающего через отрицательно заряженную мембрану митохондрий. Дрожжи *Y. lipolytica* включает в себя полностью функциональные митохондрии с полной дыхательной цепью «животного типа», что делает их адекватной моделью для изучения митохондриального ответа.

Мы изучили влияние вещества на рост клеток, клеточную смерть, продукцию активных форм кислорода, и морфологию митохондрий. В изученном диапазоне концентраций митохондриально-направленные вещества показывают прооксидантные свойства, в отличие от не модифицированных веществ. Большую же выживаемость клетки дрожжей показали в среде с АК и бетулином.

Литература

1. Missiroli, Sonia et al., *eBioMedicine*. 2020, **59**, 102943
2. Goleva, Lyamzaev et al., *Biochim Biophys Acta Bioenerg.* 2020, **1861**, 148210.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт». Вещества синтезированы и любезно предоставлены институтом органической и физической химии им. А. Е. Арбузова Казанского научного центра РАН.

ИЗМЕНЕНИЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО pH И Cl^- , А ТАКЖЕ ГЕМОДИНАМИКИ В ЖИВОЙ ТКАНИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ У МЫШЕЙ

Кислухина Е.Н.^а, Лизунова Н.В.^а, Сурин А.М.^б, Бакаева З.В.^{а,в}

^а ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, 119991, Москва, Россия, Ломоносовский просп., д. 2, стр.1. Электронная почта: Kislukhina.en@ya.ru

^б ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, Москва, Россия, Балтийская ул., д. 8;

^в ФГБОУ ВО «Калмыцкий государственный университет им. Б.Б. Городовикова», 358000, Элиста, Республика Калмыкия, Россия, ул. Пушкина, д.11.

Ишемический инсульт – это гибель нервной ткани вследствие прекращения поступления крови. При инсульте происходит глубокое нарушение ионного гомеостаза.

Методы. В эксперименте использовали мышей линии C57Bl/6J (n=8). Инсульт моделировали путем блокады средней мозговой артерии. Измерения проводили методом ШОН спустя 40 мин блокады и вплоть до 30 мин после реперфузии.

Результаты. В живой ткани кортекса в течение времени блокады наблюдали возникновение волн распространяющейся деполяризации, сопровождающихся снижением притока крови (концентрации общего гемоглобина, HbT, в ткани) и ишемией (повышение концентрации дезоксигемоглобина). Одновременно со снижением HbT происходило снижение pH. Изменения $[Cl^-]$ имели разнонаправленный характер у индивидуальных особей. Смерть мозга (n=2) после реперфузии происходила волнообразно со сходными ионными изменениями. После реперфузии повышение концентрации гемоглобина в ткани происходило не монотонно: за периодом повышения следовал период спада до пре-реперфузионного уровня. Таким образом, ткань, не затронутая напрямую ишемическим воздействием, испытывает значительные нарушения гомеостаза.

Исследование выполнено при помощи средств гранта Минобрнауки РФ (внутренний номер 08-07-S6/2021/82930) и гос. задания FGFU-2025-0004.

НОВЫЕ ГИБРИДНЫЕ КОМПЛЕКСЫ НА ОСНОВЕ МЕТАЛЛФТАЛОЦИАНИНОВ И БЕСКИСЛОРОДНОГО ГРАФЕНА ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ПРИЛОЖЕНИЙ

Клименко И.В.^а, Трусова Е.А.^{а,б}, Лобанов А.В.^{а,в}

^а Институт биохимической физики имени Н.М.Эмануэля РАН, Россия, 119334, Москва, улица Косыгина, д. 4
электронная почта: inna@deom.chph.ras.ru

^б Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН, Россия, 119334, Москва, Ленинский проспект 49

^в Московский педагогический государственный университет, Институт биологии и химии, Россия, 119991, Москва, ул. Малая Пироговская, 1/1

Фталоцианины (Фц), благодаря своим ценным физико-химическим и биологическим свойствам, высокой стабильности и доступности, являются хорошими кандидатами на роль фотосенсибилизаторов (ФС), природных или искусственно синтезированных веществ, способных к фотосенсибилизации биологических тканей. Однако, Фц имеют сильную тенденцию к самоагрегации в водных и физиологических растворах с образованием различных типов агрегатов, которые снижают их фотодинамическую активность и способность к повреждению целевых биологических структур.

В работе в водно-органической среде получены и изучены с помощью оптических методов новые гибридные системы на основе фталоцианинов алюминия ($AlCl_2Фц$) и цинка ($ZnФц$), а также бескислородного графена. В качестве органического растворителя использовали N,N-диметилформамид (ДМФА).

Полученные данные свидетельствуют об отсутствии агрегации красителей в присутствии графена в системе. Оценены значения констант связывания комплексов ($K_b = 1.4 \cdot 10^{10} \div 2 \cdot 10^{11}$ л/моль для системы $ZnФц$ – графен и $K_b = 1.8 \cdot 10^3 \div 4 \cdot 10^3$ л/моль для системы $AlCl_2Фц$ – графен), подтверждающие сильное связывание Фц с частицами графена в бинарном растворе ДМФА-вода.

Таким образом, отсутствие агрегации Фц в водном растворе в присутствии бескислородного графена

обеспечивает комплексам свойства, необходимые для использования их в качестве платформы для векторной доставки лекарств при фотодинамической терапии и ранней диагностики.

Работа выполнена в рамках Государственного задания ИБХФ РАН (№ гос. регистрации 122041400110-4).

БИОСОВМЕСТИМЫЕ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ХЛОРИНА He_6

Клименко И.В.^а, Лобанов А.В.^{а,б}

^а *Институт биохимической физики имени Н.М.Эмануэля РАН, Россия,
119334, Москва, улица Косыгина, д. 4
электронная почта: inna@deom.chph.ras.ru*

^б *Московский педагогический государственный университет, Институт биологии и химии,
Россия, 119991, Москва, ул. Малая Пироговская, 1/1*

С целью создания новых лекарственных препаратов для фотодинамической терапии (ФДТ) и диагностики в данной работе были синтезированы новые супрамолекулярные системы на основе хлорина He_6 (He_6 , $C=5$ ммоль/л) и различных биосовместимых вспомогательных веществ, таких как поливиниловый спирт гидролизованый (ПВС), поли-*N*-винилпирролидон (ПВП), натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ), кремофор® PEG-40, а также изучены их спектральные характеристики. Выбор данных вспомогательных веществ объясняется их широким использованием в составе фармакологических и косметических средств.

Анализ спектрально-люминесцентных свойств всех представленных систем показал, что добавление вспомогательных веществ приводит к увеличению интенсивности люминесценции He_6 . Смещение спектра поглощения He_6 в длинноволновую область при использовании всех указанных выше вспомогательных веществ является хорошей предпосылкой для повышения проницаемости тканей для видимого света и снижения поглощения света гемоглобином крови в области 500-600 нм, что играет существенную роль для повышения эффективности ФДТ.

Представленные в работе выводы будут полезны при разработке метода управляемой агрегации фотосенсибилизатора в составе супрамолекулярного комплекса.

Работа выполнена в рамках Государственного задания ИБХФ РАН (№ гос. регистрации 122041400110-4).

АНТИОКСИДАНТНЫЕ И АНТИАГРЕГАНТНЫЕ СВОЙСТВА ЛИПОСОМ С КОФЕЙНОЙ КИСЛОТОЙ И ГЛУТАТИОНОМ

**Козлова О.А.^{а,б}, Щелконогов В.А.^{а,б}, Иншакова А.М.^а, Шастина Н.С.^а,
Баранова О.А.^б, Чеканов А.В.^б, Соловьева Э.Ю.^б, Федин А.И.^б**

^а *МИРЭА-Российский технологический университет (ИТХТ имени М.В. Ломоносова), 119454, Москва, проспект Вернадского, 78
электронная почта: olenkakozl0w4@yandex.ru*

^б *Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова Минздрава России, 117513, Москва, ул. Островитянова, д.1, строение 6*

Ишемический инсульт, являющийся одной из наиболее распространенных патологий ЦНС с высоким показателем смертности, характеризуется возникновением и прогрессированием окислительного стресса, воспалительными реакциями, нарушениями в коагуляционном и сосудисто-тромбоцитарном гемостазах. Поэтому при терапии данного заболевания следует применять препараты, обладающие антиоксидантными и антиагрегантными свойствами. Одними из универсальных антиоксидантов являются кофейная кислота (СА) и глутатион (GSH), но вследствие их быстрой биodeградации в организме, короткого периода полувыведения их терапевтический потенциал снижается. Для устранения вышеупомянутых недостатков ранее нами были получены липосомы с кофейной кислотой, глутатионом и их комбинацией¹.

В данной научной работе оценивали влияние липосом с СА и GSH на функциональную активность нейтрофилов и тромбоцитов. На модели нейтрофилов, активированных форбол-12-меристат-13-ацетатом, было показано, что липосомы с кофейной кислотой ($C_{CA} = 0.6-1.1$ мМ), глутатионом ($C_{GSH} = 0.2-0.4$ мМ), а также с их комбинацией снижали продукцию АФК в 5-80 раз. Было продемонстрировано, что липосомы, содержащие данные антиоксиданты и их комбинацию, уменьшали степень (на 35-65%) и скорость (в 2-3 раза) агрегации тромбоцитов, индуцированных с помощью аденозиндифосфата. Наиболее выраженными антиоксидантными и антиагрегантными свойствами обладали наночастицы, содержащие совместно кофейную кислоту и глутатион, что делает их перспективными объектами для дальнейших исследований *in vitro* и *in vivo*.

Литература

1. Shchelkonogov V. A., Inshakova A. M. et al. Nanoparticles of lipoic acid esters: preparation and antioxidant effect // *Mend. Commun.* 2021, **31**, 507508

ПРИМЕНЕНИЕ КРИТЕРИЯ НОРМАЛЬНОСТИ В ДЛЯ ОЦЕНКИ СИЛЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ФОНА И ВЛИЯНИЯ ИНТЕРВЕНЦИЙ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ДОЛГОЛЕТИЯ И СТАРЕНИЯ

Конопатов А.В.^а, Шидловский Ю.В.^{а,б}, Былино О.В.^{в,г}

^а Отдел регуляции экспрессии генов в процессе развития, Институт биологии гена РАН, Россия, 119334, Москва, Вавилова 34/5

^б Кафедра биологии и общей генетики, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Россия, 119992, Москва, Трубецкая д.8 стр.2

^в Отдел регуляции генетических процессов, Лаборатория молекулярной организации генома, Институт биологии гена РАН, Россия, 119334, Москва, Вавилова 34/5

^г Центр прецизионного редактирования генома и генетических технологий для биомедицины, Институт биологии гена РАН, Россия, 119334, Москва, Вавилова 34/5
электронная почта: bylino@gmail.com

Исследования продолжительности жизни (ПЖ) и старения кривых выживания (КВ). Данные смертности от времени могут быть преобразованы в ряды ПЖ, в которых единицей измерения выступает ПЖ каждой отдельной особи. К получившимся частотным распределениям, разбитых на интервалы для сглаживания флуктуаций ежедневной смертности, может быть применен критерий нормальности, например при помощи анализа методом Шапиро-Уилка (ШУ-тест). Мы обнаружили, что при проведении генетических интервенций (введении мутации) в линии *Drosophila melanogaster* наблюдается дестабилизация онтогенеза, которое проявляется в изменении параметров распределения и частот фенотипов/вероятностей по ПЖ. Распределение может изменяться с нормального на ненормальное и наоборот. Оказалось, что смена характера распределения связана с изменением μ (средняя ПЖ) и сопровождается изменениями W (статистика ШУ-теста), причем изменения нормальности обнаруживались даже в тех случаях, когда линии КВ имели невыраженные отличия друг от друга. В экспериментах выявилась четкая положительная корреляция между значениями σ (среднеквадратическое отклонение) и W , а также между μ и коэффициентом вариации CV . Кроме того, мы продемонстрировали, что линии могут быть ранжированы при помощи критерия нормальности. Так, линии со средней ПЖ имеют нормальное распределение, а линии с низкой или, наоборот, с высокой ПЖ, имеют ненормальное распределение. Таким образом, введение критерия нормальности добавляет новый слой информации в исследования долголетия и старения.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-24-00430.

МЕТОДЫ АНАЛИЗА ОДИНОЧНЫХ РАСПРЕДЕЛЕНИЙ КОЛМОГороВА-СМИРНОВА И ШАПИРО-УИЛКА ПРИ ИЗУЧЕНИИ СТРУКТУРЫ ВЫБОРКИ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ

Конопатов А.В.^а, Шидловский Ю.В.^{а,б}, Былино О.В.^{в,г}

^а Отдел регуляции экспрессии генов в процессе развития, Институт биологии гена РАН, Россия, 119334, Москва, Вавилова 34/5

^б Кафедра биологии и общей генетики, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Россия, 119992, Москва, Трубецкая д.8 стр.2

^в Отдел регуляции генетических процессов, Лаборатория молекулярной организации генома, Институт биологии гена РАН, Россия, 119334, Москва, Вавилова 34/5

^г Центр прецизионного редактирования генома и генетических технологий для биомедицины, Институт биологии гена РАН, Россия, 119334, Москва, Вавилова 34/5
электронная почта: konopatov777@gmail.com

Продолжительность жизни (ПЖ) является сложным количественным признаком, значения которого имеют частотное распределение. Сравнение выборок на основании данных выживаемости в исследованиях ПЖ предоставляет информацию о значимости различий только в определенные моменты времени жизни когорты. В противовес могут быть разработаны методы сравнения на основе анализа полного распределения данных выживаемости. Мы предлагаем подход, в котором данные смертности по дням преобразуются в ряды ПЖ, где единицей измерения выступает ПЖ каждой отдельной особи. Получившиеся распределения анализируются на нормальность при помощи тестов Колмогорова-Смирнова (КС-тест) и Шапиро-Уилка (ШУ-тест). Мы показали, что распределения по ПЖ возможно разбить на интервалы/частоты фенотипов по формуле Стерджеса для лучшего понимания структуры выборки. Это решает проблему флуктуации смертности по дням. Полученные частотные распределения пригодны для анализа ШУ-тестом, но не КС-тестом, тогда как исходные распределения ПЖ, не разбитые на интервалы, пригодны для анализа только при помощи КС-теста. Для сравнения выборок, опытной и контрольной, частотные распределения накладываются друг на друга и изображаются вместе со своими нормальными распределениями, полученными на основе значений μ (среднее) и σ (среднеквадратическое отклонение) исходных выборок. Предложенная методика позволяет эффективно сравнивать структуру выборки двух линий.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 24-24-00430.

ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВ ВИРУСА SARS-COV-2 НА АМИЛОИДНУЮ ТРАНСФОРМАЦИЮ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА

Константинова А.В.^а, Стройлова Ю.Ю.^б

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,

электронная почта: a.v.konstantinova@mail.ru

^б Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Научно-исследовательский институт Физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1.

Альфа-синуклеин – белок, в процессе патологической фибриллизации которого формируются амилоидные агрегаты в мозге, ассоциированные с болезнью Паркинсона (БП)¹. У пациентов, перенесших COVID-19 и лонг-ковид, наблюдаются симптомы, схожие с нейродегенеративными изменениями при БП². Кроме того, белки вируса SARS-CoV-2 обнаруживают в мозге при аутопсии. Так, целью нашей работы было выявить непосредственное воздействие некоторых коронавирусных белков на процесс фибриллизации рекомбинантного альфа-синуклеина человека.

С помощью молекулярного моделирования и биохимических методов мы показали, что RBD (receptor-binding domain) белка шпиков коронавируса способен взаимодействовать как с мономерной, так и с амилоидной формами альфа-синуклеина. Добавление RBD к мономерам альфа-синуклеина приводит к торможению образования фибрилл³. Измерение кинетики образования фибрилл альфа-синуклеина показало, что добавление белка нуклеокапсида вируса SARS-CoV-2, ведёт к уменьшению лаг-периода кривой, то есть ускорению процесса фибриллизации. Измерение флуоресценции триптофанов в смеси альфа-синуклеина с каждым из исследуемых белков коронавируса демонстрирует снижение интенсивности пика по мере протекания процесса фибриллизации альфа-синуклеина. Изменение микроокружения остатков триптофанов белков коронавируса указывает на их взаимодействие с альфа-синуклеином при фибриллизации.

Таким образом, полученные результаты указывают на то, что белки коронавируса могут по-разному влиять на образование амилоидных фибрилл альфа-синуклеина, участвуя в развитии нейродегенерации.

Литература

1. Koga S., et al., *Molecular Neurodegeneration* 2021, **16**, 83.
2. Fu Y., et al., *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2022, **12**, 4535-4544
3. Stroylova Y., et al., *Biomedicines* 2023, **11**, 498.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект № 24-44-20003.

ГЛУТАТИОНИРОВАНИЕ КАК МЕХАНИЗМ СПОНТАННОЙ ИНАКТИВАЦИИ РАЗОБЩИТЕЛЕЙ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ В МИТОХОНДРИЯХ НА ПРИМЕРЕ 2-АНИЛИНОТИОФЕНОВ И ФЛУАЗИНАМА

Краснов В.С.^{а,б}, Кирсанов Р.С.^а, Хайлова Л.С.^а, Фирсов А.М.^а,
Ташлицкий В.Н.^б, Коршунова Г.А.^а, Котова Е.А.^а, Антоненко Ю.Н.^а

^а НИИ физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского

^б Химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Россия
электронная почта: volod169@mail.ru

В литературе широко представлены разобщители окислительного фосфорилирования различной химической природы (фенолы, салициланилиды, бензимидазолы, фенилгидразоны), нарушающие сопряжение переноса электронов по дыхательной цепи и синтеза АТФ в митохондриях. Однако лишь немногие из них обладают способностью спонтанно терять свою активность в митохондриях. Такое свойство было обнаружено ранее для флуазинома¹ и производных N-фенилтиофен-2-амина². Кроме того, мы выявили спонтанное исчезновение разобщающей активности для сложных эфиров 7-гидроксикумарина^{3,4}. Примечательно, что во всех этих случаях исчезновение активности в минутной шкале наблюдалось на митохондриях, выделенных из печени, но не из сердца или почек крыс^{5,6}. Существенно, что протонфорная активность всех перечисленных соединений на искусственных бислойных липидных мембранах не менялась в данной шкале времени^{3,6}. Мы показали, что разобщающая активность 2-анилинотиофенов так же, как и флуазинома, но не производных 7-гидроксикумарина, становилась постоянной в митохондриях печени при предварительной инкубации с субстратом глутатион-S-трансферазы 2,4-динитрохлорбензолом. Для подтверждения глутатион-зависимого механизма мы провели эксперименты по инкубации митохондрий печени и сердца крыс с исследуемыми разобщителями и показали методами капиллярного электрофореза и LC-MS образование GS-конъюгатов 2-анилинотиофенов и флуазинома в случае митохондрий печени. Полученные результаты указывают на глутатионирование как основной механизм исчезновения разобщающей активности 2-анилинотиофенов и флуазинома в митохондриях печени.

Литература

1. Guo Z. et al. *Biochim. Biophys. Acta* 1991, **1056**, 89–92
2. Schaefer G., Buechel K.H., *FEBS Lett.* 1970, **6**, 217-220
3. Krasnov V.S. et al. *Bioelectrochemistry* 2022, **145**, 108081
4. Krasnov V.S. et al. *Arch. Biochem. Biophys.* 2022, **728**, 109366
5. Khailova L.S. et al. *Arch. Biochem. Biophys.* 2023, **746**, 109735
6. Kirsanov R.S. et al. *FEBS J.* 2024, **291**, 5523-5539

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова.

МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ПРОТОНОФОРОВ

Крицкая Л.Д., Гроза Н.В.

«МИРЭА – Российский технологический университет» (РТУ-МИРЭА), Институт тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова,
119571, Москва, проспект Вернадского 86
E-mail: lubovkritskiy222@gmail.com

Протонофоры регулируют трансмембранный потенциал и ионный гомеостаз, что важно для клеточной функции. Их способность транспортировать протоны делает их перспективными для терапии митохондриальных дисфункций. Мы провели модельный синтез конъюгата трифенилфосфина-бромвалерьяновой кислоты¹. Карбоксильная группа 4-бромвалерьяновой кислоты была активирована для увеличения её реакционной способности, что позволило ей эффективно взаимодействовать с трифенилфосфином и образовать фосфониевую соль.

Структуры полученных соединений подтверждены данными ЯМР и ИК-спектров. В спектре ЯМР для целевого конъюгата сигналы протонов бензольных групп обнаружены при 7,80 и 7,90 м.д., протоны валерьяновой кислоты — при 3,61, 2,31 и 1,71 м.д. Для улучшения методов синтеза протонофоров мы также провели альтернативный синтез с ацилированием, используя дициклогексилкарбодимид (DCC). DCC облегчает образование активных промежуточных соединений. Структуры соединений подтверждены данными ЯМР-спектра. В спектре ЯМР для целевого конъюгата сигналы протонов бензольной группы обнаружены при 7,10 м.д., протоны при ацетильной группе — при 2,39 м.д., протон при броме — при 3,43 м.д., протоны длинной цепи — при 2,39–1,26 м.д.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, проект FSFZ-2003-0004.

Литература

1. Lingling Jiang, Han Yu, MDPI, 2022, doi:10.3390/ph15101271

ВЛИЯНИЕ ФРАГМЕНТОВ ПРИОННОГО БЕЛКА НА ТРАНСФОРМАЦИЮ АМИЛОИДОГЕННЫХ БЕЛКОВ

Кудрявцева С.С.^а, Уразов Д.О.^б

^аМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского,
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: sofiia.kudriavtceva@gmail.com

^бМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики,
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1.

В природе существует ряд тяжёлых нейродегенеративных заболеваний, обусловленных накоплением белковых агрегатов в клетках нервной ткани. К ним относятся болезни Паркинсона, Альцгеймера, Хантингтона, прионные заболевания и другие. При развитии таких заболеваний изменяется вторичная структура амилоидогенных белков, что приводит к образованию олигомерных и фибриллярных структур¹. Другими словами, идёт процесс амилоидизации.

Структура прионного белка (PrP) представлена двумя принципиально различающимися доменами: неструктурированным N-концевым доменом и C-концевым доменом, состоящим из трёх альфа-спиралей и двух бета-тяжей². Поэтому мы решили изучить свойства отдельных доменов PrP и проверить их возможное влияние на трансформацию других амилоидогенных белков.

Мы получили бактериальные клетки *E. coli*, трансфецированные плазмидами, содержащими последовательность либо N-концевого либо C-концевого фрагмента овечьего прионного белка. Конструкция для получения C-концевого фрагмента PrP также содержала последовательность гис-тага и белка SUMO, что важно для восстановления нативной структуры домена в процессе его очистки. Добавленный сайт гидролиза TEV-протеазы позволяет в конечном итоге получить очищенный препарат фрагмента.

Было исследовано взаимодействие мономеров альфа-синуклеина с неструктурированным

N-концевым доменом PrP, так как обе белковые молекулы имеют схожую природу³. Их ко-инкубация в присутствии тиофлавина Т привела к образованию крупных амилоидных агрегатов, морфологию которых мы планируем изучить с помощью электронной микроскопии. С другой стороны, ко-инкубация данного фрагмента с бета-амилоидным пептидом привела к снижению скорости амилоидизации последнего.

Литература

1. Kumar, S., et al. *Current Science*. 2010, **98(5)**, 639–56.
2. Prusiner S.B., et al. *Cell*. 1998, **93(3)**, 337-48.
3. Uversky, V.N. *Journal of Neurochemistry*. 2007, **103**, 17-37.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-44-20003.

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФЛЮОРЕСЦЕНТНО-МЕЧЕННЫХ АНТИТЕЛ С ГЛИКОПРОТЕИНАМИ ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

Кузьмин Н.А.^{а,б}, Игнатова А.А.^а, Пантелеев М.А.^{а,б}

^а Физический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2,
электронная почта: kuzmin.na20@physics.msu.ru

^б ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, 117198, Москва, улица Саморы Машела, д. 1.

Количественная проточная цитометрия — один из многообещающих методов исследования функциональной активности тромбоцитов. В данном методе измеряется средняя интенсивность флюоресценции меченных антител, связавшихся с рецепторами на поверхности тромбоцитов. По данной интенсивности можно косвенно оценить количество рецепторов на поверхности тромбоцитов¹. Основываясь на количественной оценке поверхностно экспрессированных гликопротеинов, а также содержимого внутриклеточных тромбоцитарных гранул, проточная цитометрия может служить инструментом для обнаружения ряда тромбоцитарных патологий. Важно знать особенности связывания антител с рецепторами, для того чтобы выбрать правильную рабочую концентрацию. В данной работе были изучены особенности связывания флюоресцентно-меченных моноклональных антител CD42b AF647 (антитело к гликопротеину Iba, ГП Iba) и CD61 AF647 (антитело к гликопротеину IIIa, ГП IIIa) с тромбоцитами в покое и при активации тромбоцитов: построены зависимости средней интенсивности флюоресценции меченных антител, связанных с рецепторами на поверхности тромбоцитов, от концентраций антител при инкубации, при помощи аппроксимации данных зависимостей рассчитаны константы диссоциации для антител и максимальная средняя интенсивность флюоресценции. По полученным результатам для антитела CD61 AF647 было выяснено: чем больше рецепторов, тем больше максимальная средняя интенсивность флюоресценции. По полученным результатам для антитела CD42b AF647 было выяснено, что число рецепторов ГП Iba на поверхности тромбоцитов при их активации меняется слабо, а связи между рецепторами и антителами ослабляются, что может быть связано с изменением конформации рецепторов.

Литература

1. Ignatova, A. A., Ponomarenko, E. A. et al. Flow cytometry for pediatric platelets // *Platelets*, 2018, 30, 4, 428–437.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-15-00387.

ФАГОВЫЕ ШАПЕРОНИНЫ СТИМУЛИРУЮТ ФИБРИЛЛИЗАЦИЮ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА В ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ

Лейси Е.В.^{а,б}, Поздышев Д.В.^а, Курочкина Л.П.^а

^а Институт физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: shelarisu@gmail.com

^б Факультет биоинженерии и биоинформатики Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,

Патологическая трансформация амилоидогенных белков является причиной возникновения и развития ряда нейродегенеративных заболеваний. Различные классы шаперонов, в том числе шаперонины, по-разному влияют на этот процесс. Ранее нами было установлено, что кодируемые бактериофагами GroEL-подобные шаперонины OBP и EL способны в присутствии АТФ стимулировать фибриллизацию мономеров альфа-синуклеина и прионного белка *in vitro*^{1,2}. Фибриллизация альфа-синуклеина при участии фаговых шаперонинов OBP и EL была изучена также на эукариотических клетках³. Установлено, что клетки эмбриональной почки человека HEK293T и нейробластомы SH-SY5Y эффективно продуцируют альфа-синуклеин и оба шаперонина в растворимой форме. Как при отдельной, так и при совместной экспрессии гена альфа-синуклеина с геном шаперонина (OBP или EL) наблюдалось диффузное распределение продуцируемых белков в цитоплазме клетки. Анализ продуктов экспрессии в клетках HEK293T методом вестерн-блоттинга с последующим окрашиванием специфичными антителами позволил выявить олигомерные формы альфа-синуклеина при ко-экспрессии генов альфа-синуклеина дикого типа или его мутанта A53T с генами шаперонинов OBP или EL, причем в случае шаперонина OBP эффект был наиболее ярко выраженным. Это свидетельствует о том, что фаговые шаперонины OBP и EL способны стимулировать патологическую трансформацию мономеров альфа-синуклеина в амилоидные фибриллы при ко-экспрессии генов этих белков в эукариотических клетках.

Литература

1. Leisi E.V., et al. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2022, 622, 136–142.
2. Leisi E.V., et al. Biochim. Biophys. Acta - Proteins and Proteomics 2024, 1872, 140965.
3. Pozdyshev D.V., et al. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2025, 742, 151127.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-74-00021.

ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ НЕЙРОВАСКУЛЯРНОГО СОПРЯЖЕНИЯ МЕТОДОМ ШОН В МОДЕЛИ ФОТОТРОМБОЗА У МЫШЕЙ

Лизунова Н.В.^а, Кислухина Е.Н.^а, Горбачева Л.Р.^б, Сурин А.М.^в, Бакаева З.В.^{а,г}, Савостьянов К.В.^а

^а ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, Россия, 119296, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр.1, электронная почта: natalia.lizunova18@mail.ru

^б ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1.

^в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8.

^г ФГБОУ ВО «Калмыцкий государственный университет имени Б. Б. Городовикова», Россия, 358000, Республика Калмыкия, г. Элиста, ул. Пушкина, 11.

Нейроваскулярное сопряжение — это увеличение притока крови к области активации нейронов. До сих пор нет четкого понимания основных механизмов этого процесса и его нарушений при патологиях¹. Метод широкопольной оптической нейровизуализации (ШОН) позволяет регистрировать одновременно изменения гемодинамики и нейрональной активности коры мозга у мышей. Целью данного исследования было оценить изменения нейроваскулярного сопряжения в острейшем периоде инсульта у мышей в модели фототромбоза методом ШОН. В эксперименте использовали трансгенных мышей (JAX stock #025393, Jackson Laboratory, США) с экспрессией в нейронах кальциевого сенсора GCaMP6f. Съемку методом ШОН осуществляли, как описано ранее². Инсульт снижал коэффициент корреляции между амплитудами кальциевого ($\Delta[Ca^{2+}]_c$) и гемодинамического ($\Delta[HbT]$) ответов в коре, вызванных сенсорной стимуляцией конечности в поврежденном полушарии на 1 сутки после

инсульта (0.72 ± 0.12 до 0.29 ± 0.32 , $p=0.0004$). Максимальная взаимная корреляция спонтанных $\Delta[Ca^{2+}]_c$ и $\Delta[HbT]$ также снижалась в области пенумбры (от 0.24 ± 0.04 до 0.17 ± 0.08 , $p = 0.0009$). Полученные данные способствуют совершенствованию интерпретации результатов функциональной магнитно-резонансной томографии и ближней инфракрасной спектроскопии, основанных на механизме нейроваскулярного сопряжения и используемых в клинической практике.

Литература

1. Hillman E. M. C., *Annual review of neuroscience*. 2014, **37.1**, 161-181.
2. Кислухина Е.Н, и др., *Патологическая физиология и экспериментальная терапия* 2023, **67.1**, 5-20.

Исследование выполнено при поддержке гранта Минобрнауки РФ (внутренний номер 08-07-S6/2021/82930) и гос. задания FGFU-2025-0004.

ПРОДУКЦИЯ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ КЛЕТКАМИ ПОЧКИ В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ И ПАТОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

Ломакина А.К.^а, Певзнер И.Б.^б, Ковальчук С.И.^в, Силачев Д.Н.^б, Плотников Е.Ю.^б

^а Факультет биоинженерии и биоинформатики, МГУ имени М.В. Ломоносова,
119992, РФ, Москва, Ленинские годы, д. 1с73
e-mail: anna_lyamina2001@mail.ru

^б НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова,
119992, РФ, Москва, Ленинские годы, д. 1с40

^в ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997, РФ, Москва, улица Миклухо-Маклая, д. 16/10

Внеклеточные везикулы (EV, extracellular vesicles) – наночастицы, секретируемые всеми типами клеток. EV осуществляют межклеточную коммуникацию путем переноса ими белков, мРНК и микроРНК. EV, продуцируемые всеми сегментами нефрона, могут обеспечивать связь между клетками почек, а также между почками и другими органами в физиологических и патологических состояниях. Однако остается неясным, влияют ли патологические условия на продукцию везикул клетками почек. Выявление такой зависимости могло бы помочь установить роль EV в остром почечном повреждении.

Целью работы стало сравнение физико-химических характеристик EV, продуцируемых клетками почечных канальцев крысы в нормальных и патологических условиях при кислородно-глюкозной депривации (модель ишемии *in vitro*). Из культуральной среды клеток канальцевого эпителия почки крысы ультрацентрифугированием были выделены EV, одна из фракций которых была положительна на TSG101 – маркер экзосом (EV, диаметр которых составляет 40-150 нм). Анализ траекторий наночастиц образцов везикул позволил обнаружить, что во время ишемии клетки продуцируют меньшее количество везикул, чем в нормальных условиях. Более того, во время ишемии увеличилась доля везикул, превышающих в диаметре 200 нм, что соответствует размерам экзосом и апоптотических телец. Этот результат был подтвержден повышением уровня β -актина, специфичного для экзосом и апоптотических телец, в образцах везикул, продуцируемых во время ишемии. Кроме того, во время ишемии в EV увеличивалась общая концентрация белка, а проведенный анализ протеома везикул показал отличия в их белковом составе: в продуцируемых во время ишемии везикулах увеличилось содержание 456 белков по сравнению с везикулами, продуцируемыми в нормальных условиях. Таким образом, в данной работе было показано влияние кислородно-глюкозной депривации на количество продуцируемых клетками почечных канальцев везикул, а также на их белковый состав.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 25-25-00089.

НИТРОЗИЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС ЖЕЛЕЗА С 5-(3-ПИРИДИЛ)-4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТИОЛИЛАМИ: ДЕЙСТВИЕ НА ЦОГ-2 И РЕАКЦИИ С АЛЬБУМИНОМ

Мазина Л.М.^а, Покидова О.В.^{а,б}, Лужков В.Б.^а, Руина К.С.^а, Санина Н.А.^{а,б,в}

^а Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии РАН,
142432, Черноголовка, Россия, пр. академика Н.Н. Семенова, д. 1
электронная почта: lmzina@icp.ac.ru

^б Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,

^в Научно-образовательный центр «Медицинская химия» Московского государственного областного университета, Мытищи, Россия

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) – это один из самых употребляемых классов лекарств, однако они имеют ряд нежелательных побочных эффектов, связанных с гастро- и кардиотоксичностью¹. Нитрозильный комплекс железа (НКЖ) с 5-(3-пиридил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тиолилами самопроизвольно генерирует NO² и может стать хорошей альтернативой НПВП, нивелируя их побочные действия. Основная терапевтическая мишень НПВП – циклооксигеназа-2 (ЦОГ-2), фермент, который экспрессируется во время воспалительных реакций. Противовоспалительный потенциал соединений оценивался по степени ингибирования ЦОГ-2. Важным аспектом при исследовании класса НКЖ является взаимодействие с альбумином, с которым комплексы связываются, стабилизируются и транспортируются. Цель работы – исследование влияния комплекса на терапевтическую мишень – ЦОГ-2, и изучение его распада в модельной системе с сывороточным альбумином. Установлено, что НКЖ эффективно ингибирует функции ЦОГ-2 (88% при действии 0,1 мМ НКЖ) и повышает уровень циклических нуклеотидов в гомогенате сердца (в концентрациях комплекса 0,1 мМ и 0,01 мМ). При взаимодействии с альбумином в системе за время смешивания образуется высокомолекулярный продукт. Белок влияет на скорость генерации NO, замедляя её в 3 раза. Методом молекулярного докинга показаны взаимодействия НКЖ с альбумином и возможные центры связывания.

Таким образом, данный комплекс интересен для дальнейших исследований в качестве перспективного противовоспалительного агента.

Литература

1. Tai F.W.D., et al., *Clin. Med. J. R. Coll. Physicians London*. 2021, **21**, 131–134.
2. Sanina N.A., et al., *Inorganica Chim. Acta*. 2021, **527**, 120559.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (государственное задание № 124020500019-2).

СПЕРМИДИН – МАРКЕР ИЛИ ПРЕДИКТОР СТАРЕНИЯ?

Маклецова М.Г., Зеленкова Г.А., Устьянцев Д.А., Плеханова Е.В., Сидоров С.В.

Донской государственный технический университет,
344003, Ростов-на-Дону, площадь Гагарина, д.1.
электронная почта: mgm52@bk.ru, zelenkovalex@rambler.ru

Полиамины – путресцин, спермидин и спермин, представлены во всех живых организмах от вирусов до млекопитающих. Важно отметить, что несмотря на все многообразие функциональной активности в различных тканях и органах и на разные пути метаболизма у растений, птиц и млекопитающих, можно отметить общность их функциональной активности: участие в реализации стресс-реакции и регуляции старения. Доказано, что спермидин замедляет процесс старения, снижает частоту возникновения возрастных заболеваний и продлевает жизнь.

Полиамины – это вездесущие поликатионы, которые присутствуют во всех клетках, тканях и органах. Они могут взаимодействовать с отрицательно заряженными молекулами, такими как ДНК, РНК, аденозинтрифосфат и белки. Эти молекулы выполняют множество функций во многих физиологических и патофизиологических процессах, включая клеточную пролиферацию, дифференцировку, рост, регенерацию тканей и регуляцию генов. Концентрация спермидина снижается с возрастом, а введение экзогенного спермидина обращает вспять неблагоприятные изменения, свя-

занные с возрастом, и продлевает продолжительность жизни. Установлено, что в основе эффекта спермидина, связанного с долголетием, лежит его стресс-протекторное, антиоксидантное и иммуностимулирующее действие, а также активного влияния на энергетический метаболизм в митохондриях. Физиологическое действие полиамина распространяется на все системы органов и тканей, особенно, на центральную нервную систему. Возникает вопрос: является ли снижение содержания спермидина предиктором старения?

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 00225-26-24.

РОЛЬ КАСПАЗЫ-2 В РЕГУЛЯЦИИ РЕПРОДУКТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА МЛЕКОПИТАЮЩИХ

**Мамедова А.Р.^{а,б}, Смольянинова Л.В.^{а,б}, Скрябин Б.В.^в, Аверина О.А.^{г,д}, Попов В.С.^{б,е},
Пермяков О.А.^{г,д}, Приймак А.В.^{а,г,д}, Маслова О.В.^а, Животовский Б.Д.^{а,б,ж}, Копеина Г.С.^{а,б}**

^а ИМБ им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

^б Факультет фундаментальной медицины МГУ, Москва, Россия

^в Core Facility TRAM, University of Münster, Münster, Germany

^г НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского, МГУ, Москва, Россия

^д Институт функциональной геномики МГУ, Москва, Россия

^е Институт регенеративной медицины МГУ, Москва, Россия

^ж Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden

электронная почта: mamedova.aygun.99@mail.ru

Каспаза-2 – это уникальная цистеиновая протеаза, которая сочетает в себе характеристики инициаторных и эффекторных каспаз, участвует в апоптотических и неапоптотических процессах, однако многие ее физиологические функции, молекулярные аспекты и механизмы активации до сих пор остаются предметом многочисленных дискуссий.

В данной работе для исследования роли и функций каспазы-2 был осуществлен конститутивный нокаут этого гена у мышей линии FVB с помощью технологии CRISPR/Cas9, которая ранее не применялась для нокаута каспазы-2 в модели *in vivo*. Общая характеристика мышей с дефицитом каспазы-2 показала, что нокаутные мыши не имели ярко выраженных патологий, в т.ч. соблюдалось строгое расщепление потомства по Менделю при скрещивании гетерозиготных особей; отсутствовали различия по результатам патоморфологического анализа нокаутных самок и самцов, а также нарушения в функционировании половой системы самцов. Однако совершенно неожиданным обнаруженным эффектом оказалось бесплодие самок с гомозиготным нокаутом каспазы-2. По результатам анализа литературы выяснилось, что ранее такая выраженная связь каспазы-2 с репродуктивной функцией не была описана ни в одной из опубликованных работ. Детальное исследование мышей с таким необычным фенотипом может дать ценную информацию о том, какие регуляторные механизмы могут критически зависеть от апоптотических, либо неапоптотических функций каспазы-2, и позволит добиться лучшего понимания роли этого белка в регуляции работы женской половой системы, а также механизмов развития женского бесплодия и возможных способов борьбы с ним.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-74-30006.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРОСТРАНСТВЕННОГО ПОЛИМОРФИЗМА СТРУКТУРЫ НЕЙРОНОВ НА ИЗМЕНЕНИЕ ПРОДУКЦИИ ROS МИТОХОНДРИЯМИ, ВЫЗВАННОЕ ИЗБЫТКОМ ГЛУТАМАТА

Нарциссов Я.Р.^{а,б}

^а Сектор математического моделирования и статистической обработки результатов, НИИ цитохимии и молекулярной фармакологии, Россия 115404, Москва, 6-я Радиальная, д.24, стр.14, электронная почта: образец@mail.ru

^б Biomedical Research Group, BiDiPharma GmbH, Bültbek 5, 22962 Siek, Germany.

Хорошо известно, что нейроны обладают высокими энергетическими потребностями, которые обеспечиваются за счет окислительного фосфорилирования в митохондриях. Данный процесс очень чувствителен к возникающей гипоксии и формирующимся при ней изменениям в пространственно-временных распределениях концентрации ключевых метаболитов паренхимы мозга. Экспериментально

показано, что градиенты глюкозы и кислорода играют решающую роль в формировании патологических процессов в условиях гипоксии в нервной ткани¹. Одной из наиболее частых причин развития клеточной гибели нейронов является так называемая эксайтотоксичность, обусловленная увеличением концентрации глутамата в интерстициальной жидкости. Данный процесс сопровождается повышением содержания внутриклеточного кальция и увеличением уровня продукции реактивных форм кислорода (ROS). На примере модельной системы было показано, что увеличение производства H_2O_2 , инициируемое глутаматом в нейронах вызывает заметные изменения концентрации данного соединения в нервной ткани, обусловленную ее пространственной неоднородностью². В настоящем исследовании с помощью методологического подхода, описанного ранее^{3,4} была построена 3D модель области нервной ткани, содержащей нейроны, астроциты, синаптические контакты и митохондрии. На основании визуализации решения нестационарной задачи конвекционной реакции диффузии для гидроперекиси и глутамата было показано, что переход к повышенной продукции гидроперекиси в митохондрии существенно зависит от ее положения относительно глутаматэргических синапсов и частоты выброса нейромедиатора.

Литература

1. Lobysheva, N.V., et al., *Neurochemistry International* 2009, **54**, 322-329.
2. Selivanov, V.A.; et al., *PLoS ONE* 2021, **16**, e0255164, doi:10.1371/journal.pone.0255164.
3. Nartsissov, Y.R., *Journal of Physics: Conference Series* 2021, **2090**, 012009,
4. Nartsissov, Y.R., *Frontiers in Physiology* 2022, **13**

ПЕРЕКЛЮЧЕНИЕ ТИПА АФК СИГНАЛА, ЭМИТИРУЕМОГО МИТОХОНДРИЯМИ, КАК ОСНОВА ДЛЯ РЕДОКС-ЗАВИСИМОГО АФК-СПЕЦИФИЧНОГО СИГНАЛИНГА

Никифорова А.Б., Харечкина Е.С., Круглов А.Г.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Россия 142290, Пущино, электронная почта: krugalex@rambler.ru.

Высокая степень сопряжения митохондрий и, как следствие, восстановленности компонентов дыхательной цепи, способствует усилению продукции АФК¹. Продукция H_2O_2 комплексом I дыхательной цепи и дигидролипоамиддегидрогеназой максимальна при высокой концентрации NADH и низком редокс потенциале последнего, тогда как оптимум продукции супероксиданиона (CA) сдвинут к большим значениям^{2, 3}. В клетках могут наблюдаться кратковременные всплески АФК (митовсплески), особенно в присутствии оксидантов и активаторов неспецифической Ca^{2+} -зависимой поры (РТР)⁴, способные распространяться между митохондриями, вызывая волну деполяризации⁵. Мы изучили кинетику выхода CA и H_2O_2 из митохондрий при открывании РТР и модуляции метаболического состояния митохондрий и показали, что индукция РТР приводит к подавлению генерации H_2O_2 и активации продукции CA. При ингибировании РТР, тип эмитируемых АФК определялся уровнем субстратов дыхания и окислительного фосфорилирования и селективными ингибиторами дыхательных комплексов. В митохондриях пермеабилizованных аламетицином или Ca^{2+} , всплески CA наблюдались только после значительного окисления добавленных NADH и NADPH: при редокс потенциале от -325 до -270 mV и от -315 до -295 mV, соответственно, в зависимости от концентрации NAD(P)H. Ранее было показано, что CA и H_2O_2 могут активировать различающиеся процессы в клетках^{6, 7}. Полученные данные говорят о возможности редокс-зависимого переключения типа эмитируемого АФК сигнала, что объясняет существование CA- и H_2O_2 -селективного АФК-сигналинга.

Литература

1. Korshunov S.S., et al., *FEBS Lett.* 1997, **416**, 15-18.
2. Grivennikova V.G., Vinogradov AD, *Biochim Biophys Acta* 2013, **1827**, 446-454.
3. Kareyeva A.V., et al., *Biochim Biophys Acta* 2012, **1817**, 1879-1885.
4. Wei L., et al., *FASEB J.* 2011, **25**, 3068-3078.
5. Kuznetsov A.V., et al., *Biochim Biophys Acta Bioenerg.* 2017, **1858**, 418-431.
6. Thorpe G.W., et al., *Mol Biol Cell.* **2013**, 24, 2876-2884.
7. Hao S., et al., *Curr Med Chem.* 2024, **31**, 4958-4986.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-24-00522.

ФОТОАКТИВНЫЕ КОМПЛЕКСЫ НА ОСНОВЕ β -ЦИКЛОДЕКСТРИНА И ТЕТРАФЕНИЛПОРФИРИНА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ СЕНСОРЫ

Нерсесян Э.С.^а, Клименко И.В.^а, Лобанов А.В.^{а,б}

^аИнститут биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Россия, 119334, Москва, ул. Косыгина, д. 4,
электронная почта: Edgar.S.Nersesyan@gmail.com

^бМосковский педагогический государственный университет, Россия, 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1, с. 1

Порфирины — это широко распространенные макроциклические соединения, обладающие уникальными фотофизическими свойствами. Их производными являются гемоглобин и миоглобин, главные белки, используемые при транспорте кислорода; хлорофиллы, участвующие в фотосинтезе цианобактерий, водорослей и высших растений; протопорфирин IX и биливердин, основные пигменты отвечающие за цвет яичной скорлупы^{1,2}.

Порфирины поглощают свет в диапазоне от 200 нм до 600-700 нм, а при возбуждении испускают его в диапазоне от 350 нм до 650 нм. Благодаря плоской и симметричной структуре они способны образовывать супрамолекулярные ансамбли и в связи с этим применяются в биохимии, органической химии, медицине, физической химии и химии материалов.

Данная работа посвящена синтезу и исследованию фотохимических свойств комплексов включения на основе 5,10,15,20-тетрафенилпорфирина (ТФП) и β -циклодекстрина (β -ЦД). Жесткая структура D-глюкопиранозного кольца β -ЦД позволяет связать ТФП посредством нековалентных взаимодействий: сил Ван-дер-Ваальса и гидрофобного эффекта³.

Полученные комплексы, образование которых подтверждено методами ЯМР, спектрофотометрии и спектрофлуориметрии, могут найти эффективное применение в области биохимических технологий в качестве хемосенсоров, противораковых препаратов, и таргетных антидотов.

Литература

1. Kudin L. S. et al., *J. Chem. Thermodynam.* 2020, **151**, 106244.
2. Taniguchi M. et al., *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.* 2021, **46**, 100401.
3. Molupe N. et al., *J. Porphy. Phthalocyanines.* 2019, **23(11n12)**, 1486-1494.

РАЗРАБОТКА И АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СЕТИ ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С КЛЕТОЧНЫМ СТАРЕНИЕМ

Озеров Д.Д., Щербакова Е.А., Журавлева А.А., Тебекина К.Л., Гришина У.Д., Безсонов Е.Е.

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)
Россия, 119048, Москва, Трубецкая улица, 8, стр. 2
электронная почта: ozerov_d_d@student.sechenov.ru

Проблема математического моделирования генетических взаимодействий, лежащих в основе клеточного старения, остаётся актуальной и требует дальнейшего изучения. Целью исследования являлось установление зависимости между ролью гена в старении и характером его связей. Авторами проанализировано более 3000 генов, ассоциированных с процессом старения, взятых из баз данных GenAge, HAGR и DAA.¹⁻² Гены классифицированы по патогенетическим механизмам³ на основе функциональных аннотаций и экспрессионных профилей. С учетом проведенной классификации была сформирована генетическая сеть с использованием программного обеспечения STRING и Cytoscape (версия 3.10.3).

Проведён анализ взаимодействий между продуктами генов с применением кластеризации по алгоритму MCL и оценки статистической значимости связей. Это позволило выделить ключевые узлы и определить структуру сети. Установлено, что 60% рассматриваемых генов имеют хотя бы одну значимую связь с другими, что на 45% превышает случайную сеть аналогичного размера. При этом 40%

генов обладают 4 и более значимыми взаимодействиями. Результаты подтверждают существование посттрансляционных связей между генами старения, а также выявляют корреляцию между числом и характеристиками связей гена и его принадлежностью к определённому механизму старения.

Полученные данные будут использованы для разработки математической модели, описывающей каскадную систему регуляции экспрессии генов и функциональной активности белков. Такая модель позволит прогнозировать динамику процессов старения на молекулярном уровне и найдёт применение в клинической практике при разработке персонализированных терапевтических стратегий.

Литература

1. Magalhães J. P. de, et al., *Nucleic Acids Research*, 2005, **33**, 537-543
2. Craig T., et al., *Nucleic Acids Research*, 2015, **43**, 873-878
3. López-Otín C., et al., *Cell* 2013, **53**, 1194.

ОБРАЗОВАНИЕ ПОР АМФИПАТИЧЕСКИМИ ПЕПТИДАМИ, СОДЕРЖАЩИМИ CARC-МОТИВЫ, ЗАМЕДЛЯЕТСЯ В ПРИСУТСТВИИ ХОЛЕСТЕРИНА

Олейников И.П., Фирсов А.М., Ацаркина Н.В., Выгодина Т.В.

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
НИИ физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр.40
электронная почта: oleynikov.biophys@gmail.com*

Исследовались синтетические пептиды P4, A4 и A1, гомологичные амфипатическим α -спиральным фрагментам белка M1 вируса гриппа. Пептиды P4 и A4 содержат холестерин-распознающие мотивы CARC, которые отсутствуют в A1. Ранее было показано, что P4 и A4, но не A1, оказывают токсическое действие на фагоциты и некоторые бактерии. Это могло быть связано с нарушением функций холестерин-зависимых белков, с ингибированием цитохромоксидазы, либо с нарушением целостности мембраны. Для проверки последней гипотезы мы исследовали разобщающее действие пептидов P4, A4 и A1 на азолектиновую мембрану. Исследовалось влияние A4 на $\Delta\psi$, образованную за счет валиномицин-зависимой диффузии K^+ , либо за счет активности встроенной в мембрану цитохром с оксидазы (ЦО). Также изучался выход из липосом кальцеина под действием P4, A1 и A4. Обнаружено, что A4 в субмикромольных концентрациях вызывает мгновенный и полный сброс диффузионной $\Delta\psi$ на мембране липосом. В то же время, для разобщения мембраны протеолипосом требуется на порядок более высокая концентрация пептида, что может свидетельствовать о его сорбции на поверхности ЦО. В обоих случаях разобщение существенно ослабляется при включении в состав мембраны холестерина. Пептиды A4 и P4 в субмикромольных концентрациях вызывают выход кальцеина из липосом, что, по-видимому, объясняется порообразованием. Процесс развивается в минутной шкале и существенно замедляется в присутствии холестерина. Пептид A1 также индуцирует порообразование, но в микромолярных концентрациях и независимо от присутствия мембранного холестерина.

Наши выводы: (1) пептиды A4, P4 и, в более высоких концентрациях, A1 образуют поры в азолектиновой мембране; (2) холестерин замедляет порообразование в случае CARC-содержащих пептидов A4 и P4, что может объясняться нарушением процесса олигомеризации; (3) холестерин замедляет разрядку диффузионной $\Delta\psi$ в результате уменьшения протонной утечки.

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова.

КЛЕТочНАЯ МОДЕЛЬ СТАРЕНИЯ НА ОСНОВЕ КЛЕТок ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМАМИ УСКОРЕННОГО СТАРЕНИЯ

Орлова Е.А., Абдыев В.К., Моргунова В.В., Щукина А.А., Калмыкова А.И.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова, Российская академия наук, 119334, Россия, Москва, ул. Вавилова, д. 26, электронная почта: evgenia.orlova.msu@gmail.com

Исследования в области биологии старения человека — стремительно развивающаяся сфера науки. Согласно данным ООН к 2050 году более 2 миллиардов человек в мире будут старше 60 лет, что приведет к значительному росту возрастных патологий¹. Благодаря различным животным моделям достигнут прогресс в исследовании механизмов старения, однако подобные стратегии не способны отразить биологию заболеваний человека². Перепрограммирование соматических клеток человека в индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (иПСК) с их последующей дифференцировкой позволяет получать различные типы клеток *in vitro*, изучать старение человека и его возраст-ассоциированные заболевания³. Технология, основанная на применении иПСК и их производных от пациентов с синдромами преждевременного старения, даёт возможность проследить динамику процесса старения на клеточном, генетическом и эпигенетическом уровнях и представляет собой адекватную модель для изучения старения человека. Подобных клеточных моделей у нас в стране нет. Наша лаборатория занимается перепрограммированием фибробластов пациентов с прогероидными синдромами и соответствующих им контролей (клетки здоровых пациентов) в иПСК, а также характеристикой таких клеточных моделей. В результате успешного применения неинтегративного метода репрограммирования нами были получены иПСК из фибробластов пациентов с прогерией Хатчинсон-Гилфорда (HGPS), вызванной мутацией в гене LMNA⁴, и неонатальным прогероидным синдромом Видемана-Раутенштрауха (WRS), вызванным мутацией в гене POLR3A⁵. Модель из клеток пациента с WRS была получена впервые в мире.

Литература

1. Tenchov R., et al., *ACS Chemical Neuroscience* 2024, **15(3)**, 408–446.
2. Mertens J., et al., *Annual Review of Genetics* 2018, **52**, 271–293.
3. Liu G.-H., et al., *Current Opinion in Cell Biology* 2012, **24(6)**, 765–774.
4. Batista N.J., et al., *Genes (Basel)* 2023, **14(3)**, 602.
5. Kungurtseva A.L., et al., *Problemy endokrinologii (Mosk)* 2023, **70(2)**, 86–93.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства высшего образования и науки РФ, Соглашение № 075-15-2024-539 от 24 апреля 2024 г.

ХЕМОЭНЗИМАТИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ НОВЫХ SH-РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ХИРАЛЬНОГО ВЭЖХ-АНАЛИЗА АМИНОКИСЛОТ

Панин Н.В., Морозова И.А., Никулин М.В., Дробот В.В., Гуранда Д.Ф.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 73
электронная почта: panin@belozersky.msu.ru

Разработан хемоэнзиматический метод получения оптически чистых N-меркаптоацетильных аминокислот. Определены оптимальные условия проведения ферментативной и химических стадий. Установлено, что проведение хемоэнзиматического синтеза не сопровождается рацемизацией и на выходе получают оптически чистые продукты. Благодаря широкой субстратной специфичности пенициллинацилазы по отношению к ацилируемым аминокислотам предложенным методом могут быть получены N-меркаптоацетильные производные аминокислот, аминокислот и первичных аминов. Получаемые продукты — потенциальные дериватизирующие SH-реагенты в хиральном анализе аминокислот, интермедиаты в тонком органическом синтезе, физиологически активные соединения, антиоксиданты и стабилизаторы. Показаны достоинства разработанного метода препаративного получения и преимущества применения впервые синтезированных N-меркаптоацетильных производных в хиральном ВЭЖХ-анализе аминокислот. С высоким выходом синтезированы оптически чистые N-меркаптоацетильные производные L-лейцина и L-фенилаланина, которые были использованы для предколонной дериватизации ряда аминокислот с последующим разделением

образующихся диастереомеров на традиционной C18 колонке. Показана высокая эффективность и скорость анализа при использовании N-меркаптоацетил-L-фенилаланина для определения энантиомеров фенилаланина. Предложенный метод позволяет существенно расширить потенциал методики хирального ВЭЖХ-анализа аминокислот¹.

Литература

1. Guranda D.T., et al., Journal of Chromatography A. 2005, 1095, 89-93.

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В.Ломоносова

ВЗАИМОСВЯЗЬ ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ И ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОМПОНЕНТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С НЕУТОЧНЕННОЙ АНЕМИЕЙ

Пашкова О.Л.^а, Гончарова Н.В.^а, Кабаева Е.Н.^б, Гармаза Ю.М.^а

^аГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий», Долгиновский тракт, 160, 220053, Минск, Республика Беларусь, электронная почта: oksan@inbox.ru

^бИнститут повышения квалификации и переподготовки кадров УО «Белорусский государственный медицинский университет», ул. П. Бровки 3, 220072, Минск, Республика Беларусь

Несмотря на прорыв в области диагностики нарушений метаболических процессов, пока раскрыты не все возможности по выявлению механизмов патогенеза анемий и выделения общих и отличительных характеристик их различных форм (в частности анемии неутонченной, АН). В данной работе была проведена комплексная оценка компонентов периферической крови пациентов с АН (n=15): биохимического профиля плазмы (ферритин, ФТ; растворимый рецептор трансферрина, sTfR; эритропоэтин, ЭПО; общая антиоксидантная активность, ОАА); фенотипического профиля эритроцитов (CD235a, CD47, CD95, CD55, CD59, CD147, CD63, CD38, CD44, CD71, CD36) и степени перераспределения фосфатидилисерина в их мембране. Увеличение концентраций ФТ и sTfR в плазме крови пациентов с АН относительно референсных значений свидетельствует о корректно сформированной группе. Анализ фенотипического профиля эритроцитов пациентов с АН выявил достоверное увеличение содержания CD63, CD38, CD36 мембранных белков на фоне увеличения уровня ЭПО в плазме, что свидетельствует о запуске процессов клеточной активации. Более того, снижение экспрессии CD47 гликопротеина на фоне увеличения CD95 антигена и содержания аннексин-позитивных клеток в популяции свидетельствует о запуске механизма эритроптоза при АН, а увеличение ОАА на фоне роста количества CD71⁺ клеток и выявленной положительной корреляции между содержанием ЭПО и TfR является результатом адаптативного ответа организма на хронизацию процесса гипоксических нарушений с целью поддержания редокс-баланса крови при АН. Таким образом, выявленные маркеры компонентов крови при АН можно использовать в качестве прогностических критериев ответа организма на проводимую терапию.

МЕХАНИЗМЫ ПРИОБРЕТЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК К ИНГИБИРОВАНИЮ MDM2

Первушин Н.В.^{а,б}, Япрынцева М.А.^{а,б}, Бадлаева А.С.^в, Шипунова В.О.^{г,д},
Маслова О.В.^а, Нилов Д.К.^е, Копейна Г.С.^{а,б}, Животовский Б.Д.^{а,б,ж}

^а Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, 119991, Россия, электронная почта: rhododendron.nick@mail.ru

^б Факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, 119991, Россия.

^в НИИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, 117513, Россия.

^г Институт биоорганической химии имени М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, 117997, Россия.

^д Московский центр перспективных исследований, Москва, 123592, Россия.

^е Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, 119992, Россия.

^ж Отделение токсикологии, Институт медицины окружающей среды, Каролинский институт, 17177, Стокгольм, Швеция.

В процессе канцерогенеза важное значение имеет транскрипционный фактор p53, отвечающий за стабильность генома и выполняющий онкосупрессорную функцию. Мутации гена TP53 встречаются

в злокачественных клетках примерно в половине случаев развития опухолей человека и часто ведут к нарушению функциональной активности p53. Основным регулятором белка p53 является убиквитин-лигаза MDM2, которая за счет различных механизмов поддерживает низкий внутриклеточный уровень p53. Блокирование взаимодействия MDM2 с p53 ведет к активации последнего и может запускать апоптотическую гибель опухолевых клеток за счет повышения экспрессии p53-зависимых проапоптотических факторов. Серьезной проблемой при использовании различных противоопухолевых агентов, в том числе антагонистов MDM2, проходящих в настоящее время клинические испытания, является развитие приобретенной лекарственной устойчивости к ним.

Нами были изучены механизмы приобретенной устойчивости опухолевых клеток к ингибированию MDM2¹. Различными *in vitro*, *in vivo* и *in silico* подходами было установлено, что развитие устойчивости клеток нейробластомы к подавлению MDM2 сопровождалось появлением мутаций в гене *TP53*, одна из которых (*His193Arg*) дестабилизировала взаимодействие p53 с ДНК. Обнаружено, что устойчивые клетки нейробластомы отличались меньшей чувствительностью к действию химиопрепаратов-цитостатиков (Доксорубин, Цисплатин), повышенной пролиферацией и усиленным метаболизмом по сравнению с исходными клетками. Данные особенности будут способствовать прогрессированию опухолевого заболевания.

Литература

1. Pervushin N.V., et al., *Apoptosis*. 2024, **29(11-12)**, 2197-2213.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-74-30006.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РЕДОКС-МЕДИАТОРА 2,6-ДИХЛОРФЕНОЛИНДОФЕНОЛА С ФОТОСИСТЕМОЙ 1

Петрова А.А.^а, Козулёва М.А.^б, Милановский Г.Е.^а, Черепанов Д.А.^{а,в}, Семёнов А.Ю.^а

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: draparnaldia@gmail.com

^б Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, 142290, Россия,

^в ФИЦ химической физики РАН, 119991, Москва, г. Москва, ул. Косыгина, д.4.

В настоящее время во многих лабораториях ведутся разработки фотоэлектрических ячеек на основе фотосистемы 1 (ФС1) – одного из двух фотосинтетических пигмент-белковых комплексов цианобактерий, зелёных водорослей и высших растений, который является природным высокоэффективным фотоэлементом¹. Электроды в фотоэлектрических ячейках погружают в растворитель, содержащий редокс-медиаторы – низкомолекулярные соединения, способные к переносу электрона между электродами и пигмент-белковыми комплексами. Применение двухэлектронного медиатора – 2,6-дихлорфенолиндофенола (ДХФИФ) вместе с аскорбатом (Аск) позволяет получить стабильный фотоэлектрический ответ². Однако до сих пор не ясно, какие свойства ДХФИФ обеспечивают его преимущества по сравнению с другими редокс-медиаторами. В нашей лаборатории было детально исследовано взаимодействие ДХФИФ с ФС1 при возбуждении разделения зарядов лазерной вспышкой. Показано, что ДХФИФ в присутствии Аск играет не только традиционную роль донора, но и акцептора электронов от ФС1. Показано, что семихинонная форма ДХФИФ является лучшим донором для ФС1, чем его полностью восстановленная форма. Установлено, что полностью окисленный ДХФИФ присутствует в среде, содержащей 10 мМ Аск в достаточной концентрации, чтобы акцептировать электроны от ФС1 и снижать вклад обратного переноса электрона в изолированных комплексах ФС1. В свете этих данных становится понятно, почему ДХФИФ обеспечивает эффективное включение ФС1 в электрическую цепь фотоэлемента. Полученные результаты о свойствах ДХФИФ расширяют перспективы его применения в основанных на ФС1 фотоэлементах.

Литература

1. Teodor A.H., Bruce B.D., *Trends Biotechnol.* 2020, **38**, 1329–42.
2. Goyal A., et al., *Photochem. Photobiol. Sci.* 2022, **21**, 319–36.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-74-00025.

ВЫДЕЛЕНИЕ НОВОГО ШТАММА ФОТОТРОФНОГО МИКРООРГАНИЗМА ИЗ ГОРОДСКОГО ПОВЕРХНОСТНОГО СТОКА И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО СВОЙСТВ

Петрова М.Г.^{а,б}, Горин К.В.^а, Пожидаев В.М.^а, Беренгартен М.Г.^б

^аНациональный исследовательский центр «Курчатовский институт», 123098, Москва, пл. Академика Курчатова, 1,
электронная почта: maria.maripetrova@yandex.ru

^бФедеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский политехнический университет», 107023, Москва, ул. Большая Семёновская, 38.

Ископаемые виды топлива являются доминирующим первичным источником энергии и постоянно используются по всему миру.

Интенсивная эксплуатация и потребление данных ресурсов ведут к их значительному истощению. Активное использование углеводородного топлива способствует увеличению эмиссии парниковых газов в атмосферу, включая углекислый газ, диоксид серы, оксиды азота, угарный газ и твердые частицы.

Основные причины, побуждающие к поиску альтернативных источников энергии, заключаются в росте индустриализации, повышении уровня жизни населения и стремлении к устойчивости в экономике и экологии.

В настоящее время в качестве новых нетрадиционных источников сырья для возобновляемой энергетики выдвигают биомассу фототрофных микроорганизмов, которая может быть переработана с получением различных видов биотоплив, в том числе биодизеля. Кроме того, фототрофные микроорганизмы могут быть использованы в комплексной технологии по очистке воздуха и воды.

В НИЦ «Курчатовский институт» ведутся исследования по поиску перспективных липидопродуцирующих штаммов микроводорослей.

В работе представлены результаты исследований по выделению из природных источников нового штамма фототрофного микроорганизма, с использованием метода проточной цитофлуориметрии. Определены оптимальные условия культивирования штамма, а также проведена идентификация и количественный анализ жирнокислотного профиля полученной биомассы с помощью метода газовой хроматографии.

Литература

1. Sialve B., et al., *Biotechnol. Adv*, 2009, **27**, 4, 409–416.
2. Чернова Н.И., и др., *Альтернативная энергетика и экология*, 2008, **9**, С. 68-74.
3. Sharma K., et al., *Energies*, 2012, **5**, 1532- 1553.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

ИССЛЕДОВАНИЯ СРАВНИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ЛАКТАЦИСТИНА И 6-ГИДРОКСИДОФАМИНА НА ПОВЕДЕНИЕ И ЭНЕРГИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Полякова Т.В., Булгин И.В., Медведева В.П., Миронов В.В., Миронова Г.Д., Хундерякова Н.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Пущино, 142290 Россия.
E-mail: Renithier996@yandex.ru

Болезнь Паркинсона (БП) – это нейродегенеративное заболевание, вызывающее гибель нейронов в черной субстанции (ЧС)¹ и образование телец Леви (ТЛ)², вызванное нарушением работы убиквитин-протеасомной системы³. Применяемые модели *in vivo* не могут воспроизвести главный признак БП – ТЛ. На сегодняшний день актуальны исследования с новыми подходами моделирования патологических признаков БП. Лактацистин (ЛЦ) – нейротоксин, вызывающий нейронную дегенерацию,

сопровождается ухудшением двигательных функций³ и образованием ТЛ⁴, что не наблюдается у других моделей. Целью исследования является сравнения действия двух нейротоксинов на двигательные функции и энергетическую активность в лимфоцитах крови в модели БП.

Моделирование БП производилось на крысах линии Wistar путем введения в ЧС 6ОНДА в первой группе и ЛЦ во второй группе. Тестом «Семена подсолнечника» оценивались сенсомоторные действия крыс по итогам которого у группы 6ОНДА была замечена дисфагия, замедляющая процесс поедания семян в 5 раз, а в ЛЦ в 1,5 раз.

Цитобиохимическим методом определялась активность сукцинатдигидрогеназы (СДГ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) лимфоцитов⁵. В группах с ЛЦ и 6ОНДА наблюдается преобладание гликолиза над дыханием по сравнению с контролем (* $p \leq 0,05$). В группах ЛЦ и 6ОНДА активность СДГ и ЛДГ достоверно увеличилась.

Полученные данные доказывают, что ЛЦ перспективен в моделировании БП у крыс, так как вызывает схожие энергетические изменения, что и модель с 6ОНДА.

Литература

1. Poewe W., et al., Nat. Rev. Dis. Primers. 2017. **3**: 17013.
2. Harrison I. F., et al., Journal of neurochemistry. 2019. **148(1)**, 136–156.
3. Konieczny J., et al., Behavioural brain research. 2015. **283**, 203–214.
4. Pazi M. B., et al., International journal of molecular sciences. 2024, **25(7)**, 3951.
5. Kondrashova, M., et al., Int. J. Biochem. Cell Biol. 2009, **41**, 2036–2050,

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ 25-25-00282.

ЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ КООПЕРАЦИЯ В СИСТЕМАХ ЖИВЫХ КЛЕТОК

Потапова Т.В.

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр.40
электронная почта: potapova@belozersky.msu.ru*

Согласно концепции естественных технологий биологических систем, все живые организмы на Земле близки друг другу не только единым генетическим кодом, но и характером протекающих в них процессов. Благодаря этому, можно в конкретных экспериментальных исследованиях сосредотачивать внимание на десятках видов-представителей, используя их как модельные объекты¹. К естественным технологиям следует отнести, как связь мембранного электрогенеза с энергетикой, так и наличие между клетками проницаемых контактов, позволяющих передавать энергию с помощью электрических токов². Подобного рода локальная «энергетическая кооперация» присуща многоклеточным системам на разных ветвях эволюционного древа жизни^{2, 3}. Удобная модель для количественного анализа этого явления — поляризованный верхушечный рост гриба-аскомицета *N.crassa*. Наличие энергетической кооперации с помощью электрической связи через проницаемые контакты создает в системе живых клеток локальные электрические токи и локальные электрические поля, которые могут влиять на самоорганизацию внутриклеточных структур и на работу генома. Исследовать детали этих процессов также удобно, используя как теоретическую и экспериментальную модель гифы *N.crassa*³.

Литература

1. Уголев А.М. 1987, Естественные технологии биологических система. Л.: Наука.
2. Асланиди К.Б., et al., 1988, Биологические мембраны: 5, 613 — 620.
3. Потапова Т.В., 2021, Цитология: 63., 1-12.

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова.

СОЗДАНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПАУНД ГЕТЕРОЗИГОТНЫХ МИССЕНС-МУТАЦИЙ В ГЕНЕ SLC5A6

Приймак А.В.^{а,б}, Руденко А.Ю.^а, Пермяков О.А.^а, Бажанова О.А.^в,
Григорьева О.О.^а, Аверина О.А.^а, Сергиев П.В.^а

^а НИИ Физико-Химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр.40.

электронная почта: priymak7b@yandex.ru; averina.olga.msu@gmail.com

^б Факультет фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д.27, корп.1.

^в ФГБНУ «Медико-генетический научный центр академика Н.П. Бочкова», Центр коллективного пользования «Метаболом»,
Россия, 115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1.

За последние десятилетия скачок в подходах редактирования генома позволил радикально изменить представление о моделировании заболеваний человека на животных объектах. Сегодня, с помощью технологии CRISPR/Cas мы способны не только исследовать функции ранее неизученных генов, но и создавать персонализированные животные модели генетических заболеваний человека. Эти модели позволят не только доказать причинно-следственные связи и выявить молекулярные механизмы патологий, но и начать разработку путей терапии.

Основой для нашей работы послужил клинический случай компаунд-гетерозиготных миссенс-мутаций R280W и P437Q в гене SLC5A6. Пациентка возрастом 9 месяцев была обследована нашими коллегами из ЗАО Геноаналитика и ФИЦ Биотехнологии РАН, и страдала серьезными дефектами обмена веществ, связанными с нарушением транспорта биотина, пантотеновой, липоевой кислот и задержкой психомоторного развития. Как и в данном случае, большинство мутаций в гене SLC5A6 приводят к ранней детской смертности¹. С целью изучения молекулярных основ патогенеза и путей терапии этого заболевания нами была создана мутантная мышиная модель, отражающая генетические изменения и большинство патологических характеристик, наблюдаемых у пациентки. На сегодняшний день на данной модели нами уже протестированы препараты биотин, гибридное производное биотина Био-3 и комплекс витаминов, дефицит которых вызван нарушением экспрессии белка-транспортера, кодируемого геном SLC5A6, однако исследования возможных подходов к смягчению последствий этого генетического заболевания продолжаются.

Литература

1. Riley LG., et al., Eur J Hum Genet. 2024, 32, 947–953.

Работа выполнена при поддержке Программы развития МГУ, в рамках Междисциплинарной научно-образовательной школы МГУ, проект № 24-Ш04-13.

РОЛЬ В.П. СКУЛАЧЁВА В ОБЕСПЕЧЕНИИ ФИНАНСИРОВАНИЯ УЧЁНЫХ В РОССИИ И ВЫЖИВАНИЯ РОССИЙСКОЙ НАУКИ

Птушенко В.В.^{а,б}

^а НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40

электронная почта: ptush@belozersky.msu.ru

^б Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия, 119334, Москва, ул. Косыгина, д. 4

Настоящая конференция приурочена к юбилеям академиков А.Н. Белозерского и В.П. Скулачёва и призвана отражать достижения в тех направлениях науки, которые были ими заложены. О научных достижениях самого В.П. Скулачёва, о логике его научного пути и обстоятельствах его открытий известно много, в том числе и благодаря его прекрасной книге «Рассказы о биоэнергетике»¹. О его научной (и не только) биографии, о семье, учителях, коллегах и учениках рассказано в его книге «Как это делалось»² и в его воспоминаниях, записанных его супругой Л. Задорновой³. В этих же книгах нашли отражения и события, связанные с историей НИИ ФХБ и с созданием факультета биоинженерии и биоинформатики. Однако один аспект влияния В.П. на развитие науки остался практически незамечен: его участие в создании системы финансирования науки в России в условиях, когда старая, советская система прекратила своё существование. В этих тяжёлых условиях для науки в стране В.П. Скулачёв был одним из тех людей, кто способствовал деятельности первых научных фондов в

России, активно привлекал бизнес к финансированию науки, участвовал в создании и поддержке грантовых программ и премий. Эта активность не угасла у В.П. и позже, после централизации грантовой деятельности в России. Автору этих строк посчастливилось по просьбе В.П. принять участие в подготовке, вероятно, одного из последних организованных им награждений молодых российских учёных в 2020 г. Эта благородная деятельность Владимира Петровича Скулачёва ещё не скоро получит заслуженную оценку. Одно из важных его дел, которое могло (и должно) было бы стать предметом исследований в ближайшее время, это его роль в создании РФФИ.

Литература

1. Скулачёв В.П. Рассказы о биоэнергетике. М.: «Молодая гвардия». — 1985.
2. Скулачёв В.П. Как это делалось. О тех, кто создавал современную науку. — 2010.
3. Задорнова Л.А. VLADI. Владимир Скулачев. М.: «Перо». — 2020.

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В.Ломоносова.

АККЛИМАЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ЗЕЛЁНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ К НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ

Птушенко О.С.^а, Шибзухова К.А.^{а,б}, Глаголева Е.С.^{а,б}

^а НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40
электронная почта: ksyun88ster@gmail.com

^б Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

Понимание механизмов устойчивости фотосинтетических организмов к экстремальным условиям окружающей среды необходимо для эффективного применения современных сельскохозяйственных (в том числе и биоинженерных) технологий для повышения производительности сельскохозяйственных культур. Различные представители одноклеточных зелёных водорослей в последнее время становятся важными в практическом отношении культурами (в качестве кормовых добавок, источников различных химических веществ как сырья для фармацевтических и других производств, а также как инструмент для очистки промышленных стоков и извлечения из них ценных элементов). Кроме этого, что более важно, зелёные водоросли являются удобной экспериментальной моделью для изучения акклимации фотосинтетических организмов к неблагоприятным условиям окружающей среды.

Мы исследовали акклимацию нескольких штаммов зелёных микроводорослей, относящихся к родам *Deasonia*, *Desmodesmus* и *Bracteacoccus*, к низкой положительной температуре (около 0 °C). Акклимация занимала несколько суток, в течение которых происходило постепенное снижение активности фотосистемы 2 и рост теплового рассеяния поглощённой световой энергии. При этом значительно (до 10³–10⁴ раз) возрастало количество мРНК гена, гомологичного гену *psbs* высших растений, продукт которого, PsbS, ответствен за индукцию нефотохимического тушения. Ранее нами было показано, что подобная реакция на воздействие низкой температуры наблюдается у зелёной водоросли *Lobosphaera incisa*¹. В связи с этим мы предполагаем, что подобный акклимационный ответ, включающий PsbS-зависимое нефотохимическое тушение, характерен в целом для отдела зелёных водорослей (Chlorophyta).

Литература

1. Птушенко В.В. и др., *Биохимия* 2022, **87**, 2089–2098.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-24-00195.

ДИПОЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЛИПИДНОЙ МЕМБРАНЫ ОПРЕДЕЛЯЕТ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ ФОСФОНИЕВЫХ ИЛИДОВ. ОЦЕНКА ДИПОЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА ВНУТРЕННЕЙ МЕМБРАНЫ МИТОХОНДРИЙ

Рокицкая Т.И., Кирсанов Р.С., Хайлова Л.С., Антоненко Ю.Н.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: rokitskaya@belozersky.msu.ru

Ранее было показано, что предшественники стабилизированных фосфониевых илидов способны селективно переносить протоны через липидные мембраны и являются протонофорами с катионной заряженной формой и цвиттерионной нейтральной формой^{1,2}. Протонофорная активность трех фосфониевых илидов с разным числом метилов в фенильных группах была изучена на липосомах, нагруженных флуоресцентным рН-чувствительным красителем пиранином. Механизм действия предшественников стабилизированных фосфониевых илидов сменялся от протонофорного, в случае липидов с простыми эфирными связями, к детергентному, в случае липидов со сложноэфирными связями и добавлении холестерина. Высокий дипольный потенциал мембран со сложноэфирными связями значительно замедлял протонофорный цикл, и при увеличении концентрации фосфониевых солей проявлялась неспецифическая утечка липидной мембраны. На выделенных митохондриях печени крысы транспорт протонов под действием предшественников стабилизированных фосфониевых илидов в калий ацетатной среде в присутствии валиномицина возрастал согласно увеличению их протонофорной активности. Это позволило нам сделать предположение, что дипольный потенциал внутренней мембраны митохондрий может быть ближе к мембранам из липидов с простыми эфирными связями. Для более точной оценки мы сравнили разобщающие активности (бутилоксикарбонилметил)три(3,5-ксилил)фосфония и анионного протонофора карбонилцианид-*m*-хлорофенил-гидразона на выделенных митохондриях и индуцируемые ими проводимости БЛМ, сформированных из дифитаноил и дифитанил фосфатидилхолина. В результате, мы предполагаем, что дипольный потенциал внутренней мембраны митохондрий приблизительно на 50 мВ меньше чем у липидной мембраны из дифитаноилфосфатидилхолина.

Литература

1. Kirsanov R.S., et al., *Bioelectrochemistry* 2023, **150**, 108369.
2. Rokitskaya T.I., et al., *ChemBioChem* 2024, **25**, e202300848.

ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ТРАНСПОРТА БИОТИНА ПРИ ИНАКТИВАЦИИ ГЕНА *SLC5A6*

Руденко А.Ю.^а, Зотова П.А.^а, Ожиганов Р.М.^{а,б}, Сергиев П.В.^а

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: образец@mail.ru

^б Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева, Высший химический колледж Российской академии наук, Россия, 125047, Москва, Миусская площадь, д. 9, стр. 1

Ген *SLC5A6* кодирует мембранный натрий-зависимый поливитаминовый транспортер hSMVT. Этот транспортер играет важную роль в процессе переноса биотина, пантотеновой и α -липоевой кислот через клеточную мембрану¹. Точечные мутации в гене *SLC5A6* могут стать причиной серьезных нарушений роста и развития, иммунодефицита у пациентов и даже привести к летальному исходу^{2,3}.

В данной работе была разработана тест-система для изучения транспорта биотина и его производных в клетки с инактивированным геном *SLC5A6*.

В качестве модели использовалась клеточная линия HEK293, в которой с помощью технологии CRISPR/Cas9 было проведено нокаутирование гена *SLC5A6*, путем сдвига рамки считывания. Метод основан на оверэкспрессии биотинлигазы BirA*, катализирующей биотинилирование белков, и последующем вестерн-блот-анализе.

Было выяснено, что биотинилирование белков сохраняется в клетках, нокаутных по гену *SLC5A6*. Это может указывать на существование альтернативных механизмов проникновения биотина, включая трансмембранную диффузию и другие транспортеры. Дополнительно были синтезированы производные биотина (Bio-2 и Bio-3) для оценки возможности hSMVT-независимого транспорта. Bio-2 (метиловый эфир биотина) эффективно проникал в клетки независимо от hSMVT, тогда как проникновение Bio-3 (конъюгат биотина с 4-аминофенилаланином) зависело от hSMVT.

Разработанная тест-система является универсальным инструментом для изучения транспорта биотина и его производных, а также может быть применена для разработки новых стратегий терапии пациентов с мутациями *SLC5A6*.

Литература

1. Yee, S. W., et al., *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 2024, **116(6)**, 1513-1520.
2. Ghosal, A., et al., *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 2013, **304(1)**, G64-G71.
3. Van Vyve, F. X., et al., *Molecular Genetics & Genomic Medicine* 2024, **12(2)**, e2388.

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В.Ломоносова.

АСПЕКТЫ СТАБИЛЬНОСТИ ТРАНСАМИНАЗЫ D-АМИНОКИСЛОТ ИЗ *DESULFOMONILE TIEDJEI*

Рудина Ю.В.^{а,б}, Бакунова А.К.^б, Попов В.О.^б, Безсуднова Е.Ю.^б

^а Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д.1, эл. почта: trvzz5214@gmail.com,
^б Институт биохимии им. А.Н.Баха ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН,
Россия, Москва, Ленинский проспект, д.33, строение 2, 119071.

D-аминокислоты играют важную роль в метаболизме многих живых организмов, а также применяются в медицине, пищевой и сельскохозяйственной промышленности. Для получения оптически чистых аминосоединений с целью перехода к “зеленой химии” предлагается использовать ферменты — трансаминазы. Однако в настоящее время применение трансаминаз в качестве биокатализаторов ограничено, в том числе невысокой стабильностью ферментов, которая включает в себя устойчивость белковой глобулы и стабильность холоформента – ковалентного соединения кофактора пиридоксаль-5'-фосфата с апоферментом трансаминазы. В данной работе рассматриваются факторы, влияющие на стабильность новой трансаминазы D-аминокислот из *Desulfomonile tiedjei* DSM 6799 (Desti-TA).

На основе структурного анализа Desti-TA предсказана дисульфидная связь в межсубъединичном контакте, нехарактерная для трансаминаз. Методом точечного мутагенеза показано, что данная связь не влияет на активность фермента, однако вносит существенный вклад в температурную стабильность. Вариант с заменой соответствующего цистеина (C25A) в операционных условиях при 40 °C инактивировался в течение 2-х суток, в то время как фермент дикого типа сохранял активность 80-90%. При этом температура полуперехода варианта из нативного состояния в денатурированное снизилась на 10 °C.

При исследовании стабильности холофермента определяли скорость утечки кофактора из активного центра Desti-TA в ходе трансаминазной реакции. Были проанализированы разные реакционные условия, в том числе добавки органических растворителей. Так, обнаружен стабилизирующий эффект введения в реакционную среду DMSO (20% v/v), а также увеличения концентрации кетосустрата.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 23-74-30004.

РОЛЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИНАМИКИ В ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ КЛЕТОК НЕЙРОГЕННОЙ НИШИ ГИППОКАМПА

Рябова М.С.^{а,б}, Егорова А.В.^{а,б}, Федорова Е.Н.^{а,б}, Воронков Д.Н.^б, Сухоруков В.С.^{а,б}

^а ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» МЗ РФ (Пироговский Университет), Москва, ул. Островитянова, д.1, 117513

^б ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Волоколамское шоссе, д.80, 125367
электронная почта: ryabovamarias@gmail.com

Субгранулярная зона гиппокампа является одной из немногих областей, где в постнатальном периоде фиксируется нейрогенез, являющийся одним из важнейших механизмов пластичности головного мозга. Дифференцировка нейрональных предшественников сопровождается изменением митохондриальной динамики^{1,2}. В связи с этим актуально изучить влияние ингибитора деления митохондрий mdivi-1 (mitochondrial division inhibitor) на созревание нейрональных предшественников.

У крыс после внутрижелудочкового введения mdivi-1 оценивали: сукцинатдегидрогеназу (SDHB, митохондриальный маркер), даблкортин (DCX, маркер незрелых нейронов), полисиалированную нейрональную молекулу клеточной адгезии PSA-NCAM, а также белок постсинаптической плотности PSD95. При помощи окрашивания на SDHB было зафиксировано увеличение среднего размера митохондрий, что объясняется сдвигом баланса динамики органелл в сторону слияния. В субгранулярной зоне у животных, получавших mdivi-1, уменьшалось количество DCX+ нейронов, и нарушалось их распределение за счет повышенной кластеризации, что подтверждается увеличением коэффициента Кларка-Эванса. Оценка морфологии нейронов³ выявила сокращение доли PSA-NCAM+ клеток, что указывает на торможение созревания нейронов. Подавление нейрогенеза сопровождалось тенденцией к увеличению экспрессии PSD95, что связано с перестройкой синаптических структур.

Полученные результаты демонстрируют, что ингибитор митохондриального деления mdivi-1 подавляет дифференцировку нейрональных предшественников и их интеграцию в синаптическую сеть гиппокампа.

Литература

1. Khacho M, et al., Dev Dyn. 2018, **247(1)**, 47–53.
2. Chen W, et al., Signal Transduct Target Ther. 2023, **8(1)**, 333
3. Plümpe T, et al. BMC Neurosci. 2006, **7(1)**, 77.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ, проект 24-25-00276.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАКРОЭРГИ ГЛИКОЛИЗА В ПРОТИВОРАКОВОЙ ТЕРАПИИ

Саратовских Е.А.^а, Санина Н.А.^{а,б,в}

^а ФИЦ Проблем химической физики и медицинской химии РАН,
Российская Федерация, 142432, Московская область, Черноголовка, пр. ак. Семёнова, 3,
электронная почта: easar@icp.ac.ru

^б Факультет фундаментальной физико-химической инженерии Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,
Российская Федерация, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1.

^в Научно-образовательный центр «Медицинская химия» Московского государственного областного университета,
Российская Федерация 141014, Московская область, Мытищи, ул. Веры Волошиной, д. 24.

Известно, что производство энергии в раковой клетке осуществляется исключительно в процессе гликолиза. Онко-клетки переключают производство энергии на себя, что обуславливает бесконечный рост числа поражённых клеток. Задача потенциальных лекарственных препаратов — прекратить этот неконтролируемый рост. Биядерные нитрозильные комплексы железа (НКЖ) – доноры NO, проявляют значительные антиметастатические и противоопухолевые эффекты¹. Исследование взаимодействия ряда НКЖ с макроэнергетическими биомолекулами АТФ и ФЕП проводили с использованием широкого спектра физико-химических методов: спектроскопии (УФ-, ИК-, ЯМР, ЯГР), спектрофлуориметрии, хромато-масс-спектрометрии. Установлено, что в ходе реакции происходит распад биядерного [2Fe-2S] центра исходных НКЖ. Образующиеся продукты не содержат NO групп. Продукт

реакции НКЖ с ФЕП имеет центральный атом Fe(III) и исходный S-лиганд; за счет карбоксила присоединён остаток ФЕП². Продукт реакции НКЖ с АТФ более сложный – помимо NO, НКЖ теряет исходный S-лиганд, образуя комплексное соединение Fe(III) с аденином³. Полученные результаты указывают, что противоопухолевые эффекты, проявляемые НКЖ, могут быть обусловлены взаимодействием с гликолитическими макроэргами АТФ и ФЕП.

Литература

1. Алдошин С.М., Санина Н.А. Функциональные нитрозильные комплексы железа – новый класс доноров монооксида азота для лечения социально значимых заболеваний. – М, МАКС Пресс. 2015.
2. Саратовских Е., и др., *Хим. физика*. 2020, **39**, 1, 39-46.
3. Saratovskikh E., et al., *J. Organomet. Chem.* 2020, **922**, 121356.

Работа выполнена в соответствии с темой Государственного задания (Гос. регистрация № 124020500019-2).

ИССЛЕДОВАНИЕ МОДЕЛЕЙ ХРОМОФОРНЫХ ЦЕНТРОВ МИКРОБНЫХ РОДОПСИНОВ

Сафинова А.Я.^{а,б}, Петровская Л.Е.^в, Беликов Н.Е.^а, Лукин А.Ю.^б, Демина О.В.^а, Ходонов А.А.^а

^а ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Россия, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4, электронная почта: khodonov@gmail.com

^б МИРЕА – Российский технологический университет, Россия, 119571, Москва, пр-кт Вернадского, 86.

^в Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Россия, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10.

Нами было проанализировано влияние отдельных типов модификации хромофорной группы на структуру и функцию двух представителей микробных родопсинов: бактериородопсина (BRh) из *Halobacterium salinarum* и протеородопсина из *Exiguobacterium sibiricum* (TRh). Была протестирована способность избранной группы ретиноидов к образованию ковалентных и нековалентных комплексов с указанными представителями микробных родопсинов, а также, были определены особенности их взаимодействия с апобелками и параметры их фотохимических и функциональных свойств.

Было установлено, что, два апобелка из различных микробных родопсинов по разному взаимодействуют с одинаково модифицированными хромофорами: в случае бактериородопсина из *H. salinarum*, замена триметилциклогексенового кольца в природном хромофоре ретинале на: 4-оксо- Ret2, 4-фторфенильный Ret3 или юлолидиновый Ret4 аналоги не блокировало возможность образования аналогов бактериородопсина (ABRh)¹, однако, для апобелка из протеородопсина TRh было зафиксировано образование искусственных пигментов только из Ret2, Ret3 аналогов ретиналя (4-оксо-ATRh, F-Phe-ATRh).

Впервые обнаружен фотоиндуцированный обратимый гидролиз протонированной альдиминной связи для F-Phe-ATRh.

На основе юлолидинового аналога ретиналя Ret4 была создана модель хромофорных центров микробных родопсинов, имитирующая их спектральные свойства.

Литература

1. Беликов Н.Е., и др., *Биоорганич. химия*, 2022, **48**, 694–706.

ИНДУКЦИЯ БИОСИНТЕЗА КОФЕРМЕНТА АЦЕТИЛИРОВАНИЯ В ЗВЕЗДАТЫХ КЛЕТКАХ ПЕЧЕНИ ЧЕЛОВЕКА LX-2 ПРИ ДЕЙСТВИИ ПАНТЕНОЛА

Семенович Д.С.^а, Зорова Л.Д.^{а,б}

^а НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40, электронная почта: 7emenovich@gmail.com

^б Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени В.И. Кулакова, 117997, Москва, ул. Академика Опарина, 4.

Пантенол (ПЛ) – спиртовое производное пантотеновой кислоты, которое обладает антиоксидантным, противовоспалительным, репаративным и защитным действием при повреждении клеток свободными радикалами, что делает это соединение перспективным гепатопротекторным средством. Производные пантотеновой кислоты, ПЛ и его природный аналог пантетеин, играют важную роль в механизмах защиты и восстановления клеток от окислительного стресса, увеличивая содержание низкомолекулярных антиоксидантов и АТФ, уровень которых значительно снижается в клетках при многих патологических состояниях¹⁻². Одним из потенциальных механизмов защитного действия ПЛ может быть активация биосинтеза кофермента А (CoASH) в митохондриях клеток. Звездчатые клетки печени человека (LX-2) культивировали 24 ч в питательной среде DMEM/F-12, содержащей 10% телячьей сыворотки и ПЛ (5, 10, 20 мМ). В хлорнокислых лизатах клеток определяли общее содержание CoASH рециклическим ферментативным методом, основанным на арсенолитическом превращении ацетилфосфата, катализируемом фосфотрансацетилазой³.

Нами было установлено, что ПЛ приводит к достоверному повышению уровня CoASH в клеточных лизатах. Одновременно с увеличением CoASH нами было выявлено повышение общего содержания низкомолекулярных тиолов в клетках LX-2. Таким образом, действие ПЛ на звездчатые клетки печени приводит к активации биосинтеза CoASH и увеличению уровня низкомолекулярных тиолов, что может способствовать защите клеток от окислительного повреждения активными формами кислорода.

Литература

1. Karadag A., et al., *J. Pediatr Surg.* 2015, **50(7)**, 1119-1124.
2. Doğan E.E., et al., *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2017, **89**, 1409-1414.
3. Abiko Y., *Methods in Enzymology* 1970, **18**, 314-318.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-74-00063.

ИОНЫ ЦИНКА КАК ИНСТРУМЕНТ ИЗУЧЕНИЯ АРТИКУЛЯЦИИ ОБМЕНА ПРОТОНАМИ ЦИТОХРОМОКСИДАЗЫ С ВОДНОЙ ФАЗОЙ

Силецкий С.А.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: siletsky@belozersky.msu

Ионы цинка могут быть использованы как инструмент для выяснения последовательности (артикуляции) стадий обмена протонами с водной фазой в механизме работы протонных помп. В режиме одного оборота фермента исследовалось действие ионов цинка с внешней стороны мембраны на кинетику генерации мембранного потенциала цитохромоксидазой aa_3 из *R. sphaeroides* дикого типа и с мутациями в протон-проводящем D канале. Показано, что ионы цинка оказывают ингибирующее адресное действие на миллисекундную часть кинетики, связанную со стадиями переноса протонов, в диком типе и в мутантах, сохраняющих способность к перекачиванию протонов через мембрану¹⁻². В отличие от дикого типа, в котором ионы цинка с внешней стороны мембраны действовали исключительно на самую медленную электрогенную фазу кинетики, в случае мутантов действие ионов цинка было дифференцированным. Предложены описания особенностей электрогенных механизмов, объясняющие вариации в артикуляции стадий переноса протонов внутри белка и выхода протонов на внешнюю сторону мембраны.

Литература

1. Siletsky, S.A., Gennis, R.B. *Biochemistry (Moscow)*, 2021 **86** 105-122.
2. Siletsky S.A. *Biochemistry (Moscow)* 2023 **88**, 1513-1527.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 22-14-00104.

НАРУШЕНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У КАСПАЗА-2 НОКАУТНЫХ МЫШЕЙ

**Смолянинова Л.В.^{а,б}, Мамедова А.Р.^{а,б}, Каримова О.С.^{а,б}, Скрыбин Б.В.^в, Аверина О.А.^{г,д}, Шилова А.А.^{а,е},
Попов В.С.^{а,е}, Никишин Д.А.^ж, Семенова М.Л.^ж, Маслова О.В.^а, Животовский Б.Д.^{а,б,з}, Копейна Г.С.^{а,б}**

^а Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия smolyaninovalarisa1@gmail.com

^б Факультет фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

^в Core Facility of Transgenic Animal and Genetic Engineering Models, University of Münster, Münster, Germany

^г НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

^д Институт функциональной геномики МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

^е Институт регенеративной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

^ж Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

^з Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden

Каспаза-2 принадлежит к семейству цистеиновых протеаз, участвует в апоптозе, в поддержании генетической стабильности, в регуляции клеточного цикла и некоторых других физиологических процессах. Впервые исследование участия каспазы-2 в репродуктивной функции было выполнено на каспаза-2-дефицитных мышах линии C57BL, у которых было обнаружено повышенное число примордиальных фолликулов, содержащих ооциты, не погибших в результате апоптоза¹. Для продолжения исследования роли каспазы-2 в репродуктивной функции нами были созданы каспаза-2-дефицитные мыши линии FVB с помощью CRISPR/Cas технологии.

На первом этапе проводили скрещивание диких и нокаутных самок с диким самцом. На 7 день беременности осуществляли вскрытие самок и проводили подсчет количества эмбрионов. Установлено сниженное число беременных нокаутных самок с меньшим количеством эмбрионов в сравнении с диким типом. Наблюдаемый эффект не зависел от возраста нокаутных самок. Одной из негативных причин, влияющих на наступление беременности, могут быть нарушения в эстральном цикле или изменения овариального резерва у самок. Исследование эстрального цикла диких и нокаутных самок не выявило разницы. Показатели овариального резерва (*Zp3* и *Dazl*) не отличались у диких и нокаутных самок.

Таким образом, разница в фертильности нокаутных (*casp2^{-/-}*) самок линии FVB в сравнении с дикими самками не определяется нарушениями в эстральном цикле и изменением овариального запаса, а установление причин снижения фертильности нокаутных самок требует дальнейших исследований.

Литература

1. Bergeron L, et al., Defects in regulation of apoptosis in caspase-2-deficient mice. *Genes Dev.* 1998, 12, 1304-1314.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-74-30006.

ГЕНЫ LAM, КОДИРУЮЩИЕ ТРАНСПОРТЕРЫ СТЕРИНОВ, НЕОБХОДИМЫ ДЛЯ СПОРУЛЯЦИИ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Соколов С.С., Сурикова Е.Д., Голышев С.А., Смирнова Е.А., Северин Ф.Ф.

НИИ ФХБ им А.Н. Белозерского Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,

Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40

электронная почта: sviatoslav.sokolov@gmail.com

Семейство генов *LAM*, кодирующих белки транспортеров стериннов, у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* содержит 6 генов. Белки Lam1 - Lam4 транспортируют стеринны между плазматической мембраной и эндоплазматическим ретикулумом, а белки Lam5 и Lam6 между митохондриями или

вакуолью и эндоплазматическим ретикулумом. Нами было показано, что нарушение, как генов *LAM1* - *LAM4*, так и генов *LAM5* - *LAM6* приводит к снижению количества спорулирующих клеток и снижению числа спор в асках. Нарушение всех шести генов *LAM* приводит к почти полному отсутствию споруляции. Испытание спор на устойчивость к высокой температуре и щёлочи показали значительное снижение их жизнеспособности при нарушении генов *LAM*. Электронная микроскопия показала нарушения формирования клеточной стенки спор при нарушении генов *LAM*. Таким образом мы показали необходимость внутриклеточного транспорта стерина, опосредованного генами *LAM* для споруляции.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 23-14-00172.

СТРЕСС-РЕАКТИВНОСТЬ СТАРЕЮЩИХ КРЫС WISTAR И SHR ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРЕБЫВАНИЯ В ИЗОЛЯЦИИ

Степаничев М.Ю., Мамедова Д.И., Квичанский А.А., Третьякова Л.В.,
Овчинникова В.О., Моисеева Ю.В., Недогреева О.А., Гуляева Н.В.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Россия, 117485, Москва, ул. Бутлерова, д. 5а,
электронная почта: m_stepanichev@ihna.ru

Длительный социальный изоляционный стресс (СИС) является одним из наиболее значимых факторов, оказывающих негативное влияние на когнитивные функции при старении. Кроме того, СИС является фактором который оказывает серьезное воздействие на механизмы нейрогуморальной регуляции. Было изучено влияние длительного, в течение 14 недель, СИС на последующую реакцию на острый стресс, вызванный ограничением подвижности у самцов крыс Wistar и спонтанно-гипертензивных крыс SHR возрастом 13-14 мес. В сыворотке крови исследовали уровень кортикостерона, глюкозы и про- и противовоспалительных цитокинов, а также оценивали экспрессию мРНК генов, связанных с регуляцией стероидогенеза и цитокинов, в надпочечниках и в мозге. СИС повлиял на реакцию на умеренный иммобилизационный стресс, включая экспрессию регуляторных генов *Fkbp5* и *Star* в надпочечниках и содержание провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-6 в крови, хотя изменения этих показателей были достаточно слабыми. Острый стресс приводил к снижению мРНК *Tnfa* в гиппокампе контрольных крыс Wistar и изолированных крыс SHR. В гиппокампе после острого стресса наблюдалось увеличение экспрессии мРНК *Il-6*, а во фронтальной коре – снижение экспрессии мРНК *Cx3cr1*. Эти эффекты в гиппокампе были общими для крыс Wistar и SHR и не зависели от СИС. Это указывает на сложный характер изменений экспрессии про- и противовоспалительных факторов в мозге крыс, которые обусловлены комплексным взаимодействием этих генов при гипертензии и хроническом стрессе у стареющих животных.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 22-15-00132.

АНАЛИЗ ГЕРОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ АНТИОКСИДАНТА SKQVERB В МОДЕЛИ ХРОНОЛОГИЧЕСКОГО СТАРЕНИЯ МИОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА MB135

Строчкова Н.Ю.^а, Челомбитько М.А.^а, Моргунова Г.В.^б

^аМосковский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия
Электронная почта: stronatala@yandex.ru

^бСектор эволюционной цитогеронтологии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

Митохондриально-направленное соединение SkQVerb — конъюгат пластохинона с берберином — продемонстрировало антиоксидантные свойства в ряде моделей *in vitro*¹. Для животных клеток был показан геропротекторный эффект ряда аналогичных антиоксидантов². SkQVerb в данной работе не исследовался. Мы предположили, что SkQVerb также может замедлять клеточное старение *in vitro*.

Исследование проводили на нормальных иммортализованных миобластах MB135 из биопсии мышц здорового человека. Для определения β -галактозидазы (β -гал) и провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-8 были использованы гистохимический метод и иммуноферментный анализ. Статистическую обработку данных проводили с применением анализа ANOVA.

Вначале показали наличие хронологического старения клеток МВ135: в 4х недельной культуре процент β -гал-положительных миобластов составил 60%, в 1 недельной – 0%. Также наблюдалось статистически значимое увеличение концентрации ИЛ-6 и ИЛ-8 в среде.

В данной модели SkQVerb в концентрации 20 нМ приводил к двукратному снижению процента β -гал-положительных клеток в 4х недельной культуре, концентрации 4 и 100 нМ не влияли на этот параметр. SkQVerb в концентрациях 4 и 20 нМ снижал содержание ИЛ-6 в 1,3 и 1,7 раз соответственно, а в концентрации 100 нМ не оказывал эффекта. Снижение ИЛ-8 наблюдалось только под воздействием 20 нМ SkQVerb. Таким образом, результаты нашей работы указывают на потенциальный геропротекторный эффект SkQVerb. Это открывает перспективы применения данного митохондриально-направленного антиоксиданта в качестве геропротекторного средства.

Литература

1. Lyamzaev K.G., et al., Pharm Res. 2011 **28**(11) 2883-95
2. Skulachev M.V., et al, Curr. Drug Targets. 2011 **12**(6) 800-826.

ЗАМЕНА ЛИЗИНОВ В УНИВЕРСАЛЬНОМ САЙТЕ СВЯЗЫВАНИЯ ЦИТОХРОМА С ВЕДЕТ К АКТИВАЦИИ ПЕРОКСИДАЗНОЙ РЕАКЦИИ И ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С ЛИГАНДАМИ: МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

Судаков Р.В.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: sudakovromvlad@gmail.com

Цитохром с (ЦЦ) является переносчиком электронов в дыхательной цепи (ДЦ) от *bc1* к цитохром с оксидазе (ЦО). Кроме основной функции, у ЦЦ имеется ряд дополнительных, самой важной из которых является участие в апоптозе, включающее стимуляцию пероксидазной активности, перекисное окисление кардиолипина и других липидов, пермеабиллизацию мембраны митохондрий и образование апоптосомного комплекса. Также ЦЦ способен эффективно взаимодействовать с активными формами кислорода (АФК). В качестве сенсора АФК ЦЦ представляет биотехнологический интерес, однако, чтобы использовать белок подобным образом *in vivo* необходимо исключить его участие в ДЦ. С этой целью было получено три мутанта ЦЦ с заменами остатков лизина на глутамат в Универсальном Сайте Связывания (УСС). Для компенсации общего электрического заряда белка одновременно производились замены глутаматов на лизины вне УСС. Было экспериментально показано, что полученные мутанты не способны взаимодействовать с ЦО и, одновременно, обладают в 4-6 раз более высокой пероксидазной активностью и лучше связывают малые экзогенные лиганды. Причины этих функциональных изменений исследованы *in silico*.

Активный центр ЦЦ образован гемопорфирином типа *s*, содержащим в центре гексакоординированный атом железа, находящийся в низкоспиновом состоянии, что объясняет очень низкую пероксидазную активность и плохое взаимодействие с лигандами ЦЦ дикого типа. Однако, аксиальные лиганды железа не равноценны: связь с азотом His 18 прочная, а с S Met80 относительно слабая, что создает возможность изменений. Расчеты в программе ProKSim показали увеличение неоднородности электростатического поля на поверхности белка, что неизбежно должно повлиять на общую конформационную стабильность белка, а также на подвижность петли в районе метионина 80, прикрывающей гидрофобный карман с гемом. И то, и другое продемонстрировано расчетами молекулярной динамики с моделированием координационной связи между железом и серой с помощью потенциала Морзе. По сравнению с диким типом, у мутантов ЦЦ наблюдается увеличение подвижности прикрывающей гем петли, а расчеты Umbrella Sampling показывают уменьшение энергии проникновения молекулы H_2O_2 в гидрофобный карман.

Работа выполнена в рамках гостемы МГУ имени М.В. Ломоносова.

НОКАУТ БЕЛКА ПРОМИЕЛОЦИТАРНОГО ЛЕЙКОЗА (PML) ВЛИЯЕТ НА КАЛЬЦИЕВЫЙ СИГНАЛИНГ, ИНДУЦИРОВАННЫЙ ГИСТАМИНОМ В КЛЕТКАХ HELa

Сурин А.М.^а, Шарипов Р.Р.^а, Силонов С.А.^б, Микрюкова А.А.^а,
Московцев А.А.^а, Бакаева З.В.^в, Рогачевская О.А.^г, Фонин А.В.^б

^а Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии Министерства образования и науки Российской Федерации, г. Москва, Балтийская ул., д. 8, 125315 Россия

^б Институт цитологии Российской Академии наук, г. Санкт-Петербург, Тихорецкий просп., д. 4, 194064 Россия

^в Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Ломоносовский проспект, д. 2/1, 119296 Россия

^г Институт биофизики клетки, Институтский просп., д. 3, г. Пущино, Московская обл., 142290 Россия

Белок промиелоцитарного лейкоза (PML) является одним из факторов транскрипции, нарушение функционирования которого приводит к острому промиелоцитарному лейкозу. Недавно показано, что PML может быть одним из регуляторов активности инозитол-1,4,5-трифосфатных рецепторов (IP₃Rs) и потенциально способен влиять на транспорт Ca²⁺ из ЭПР в митохондрии. В настоящей работе было исследовано влияние PML на изменения внутриклеточной концентрации свободного Ca²⁺ в цитозоле, в ЭПР и митохондриях клеток HeLa при действии гистамина, вызывающего мобилизацию Ca²⁺ из ЭПР через IP₃Rs. Для этого сравнивали изменения сигналов синтетических кальциевых индикаторов Fura-2 и Xrhod-5F, белкового флуоресцентного Ca²⁺-сенсора, имеющего ЭПР-локализацию (R-CEPIAer), а также изменения митохондриального потенциала, регистрируемые с помощью потенциал-чувствительных зондов Rh123 и TMRM в контрольных клетках HeLa и нокаутированных по гену PML. Добавление гистамина (Hist, 10 мкМ, 5 мин) вызывало скачок цитозольной концентрации Ca²⁺ ([Ca²⁺]_i) и в матриксе митохондрий ([Ca²⁺]_m), за которым в части клеток следовали осцилляции [Ca²⁺]_i. В остальных клетках после первоначального быстрого подъема следовало плавное снижение [Ca²⁺]_i до стационарного уровня. Изменения [Ca²⁺]_m имели вид плавных кривых и наблюдались в тех клетках, в которых отсутствовали осцилляции [Ca²⁺]_i. Нокаут PML уменьшал на ~20% интегральный [Ca²⁺]_i ответ на Hist, при этом захват Ca²⁺ митохондриями был выше в PML-клетках. Сигналы R-CEPIAer отражали падение [Ca²⁺]_i в ЭПР клеток, в которых не происходило индуцированных Hist осцилляций [Ca²⁺]_i. Полученные результаты позволяют предположить, что нокаут PML влияет на гомеостаз Ca²⁺, возможно, за счет увеличения переноса Ca²⁺ из ЭПР в митохондрии.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ, проект 22-15-00429 и госзадания FGFU-2025-0004.

ПЕРИЦИТЫ ЯВЛЯЮТСЯ КЛЮЧЕВЫМИ РЕГУЛЯТОРАМИ ВАЗОКОНСТРИКЦИИ СОСУДОВ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ЧЕЛОВЕКА

Сюткина В.В., Антропова Ю.Г., Калинина Н.И., Ткачук В.А., Чечехин В.И.

Кафедра биохимии и регенеративной биомедицины, факультет фундаментальной медицины медицинского научно-образовательного института, МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, 119991, Ломоносовский пр-т., 27 к 1.

электронная почта: info@fbm.msu.ru

Артериальная гипертензия является ведущей причиной смертности во всем мире. На артериальное давление влияют две основные составляющие: работа сердца и тонус сосудов. Принято считать, что гладкомышечные клетки (ГМК) экспрессируют рецепторы к вазоконстрикторам, а эндотелиальные к вазодилататорам. Вместе с тем, ранее в нашей лаборатории было показано, что α1A-адренорецепторы, являющиеся вазоконстрикторными, располагаются на перицитах. В связи с этим, мы предположили, что рецепторы и к другим вазоконстрикторам также локализуются преимущественно на перицитах, а не на ГМК. Так, проанализировав данные РНК-секвенирования одиночных клеток, мы показали, что рецепторы к вазоконстрикторам ангиотензину II (AGTR1) и вазопрессину (AVPR1A) экспрессируются на перицитах, а не в гладкомышечных клетках. Эти результаты были подтверждены с помощью иммуногистохимической окраски сосудов жировой ткани человека. Используя иммуногистохимическую окраску, мы показали, что рецепторы ангиотензина II 1 типа и вазопрессина типа 1A специфически экспрессируются PDGFRβ+ перицитами, а не CALP+ ГМК и CD31+ эндотелиальными клетками.

Таким образом, мы показали, что рецепторы основных вазоконстрикторов располагаются на перитониях, а не на ГМК или эндотелии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 19-75-30007.

ОБЩИЕ И РАЗЛИЧАЮЩИЕСЯ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ И СМЕРТНОСТИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Тихонов С.А.^{а,б}, Дмитриев С.Е.^{а,б}, Тышковский А.Э.^{а,в}

^а НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского и

^б Факультет биоинженерии и биоинформатики,

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,

^в Гарвардская медицинская школа, Женская больница Бригема, Бостон, Массачусетс, 02115 США,

электронная почта: atyshkovskii@bwh.harvard.edu

На сегодняшний день возраст-зависимые заболевания являются главным фактором смертности людей по всему миру¹, однако молекулярные механизмы, объясняющие увеличение вероятности их возникновения с возрастом, остаются во многом неизученными. Имеющиеся эпигенетические часы способны косвенно предсказывать биологический возраст в отдельных видах²⁻³, но не существует модели часов, способной предсказывать ожидаемую смертность для различных видов млекопитающих. В данной работе мы решили заполнить эти пробелы, проанализировав эпигенетические паттерны, ассоциированные с общей смертностью, старением и возраст-зависимыми заболеваниями.

Мы показали, что уменьшение эпигенетической энтропии в генах, ассоциированных с различными функциями иммунной системы, объединяет старение, возраст-зависимые заболевания и прогерии человека, в то время как в генах развития энтропия растет при увеличении хронологического возраста, но падает в ответ на возраст-зависимые заболевания. Разработанная нами модель эпигенетических часов, предсказывающая ожидаемую смертность как метрику биологического возраста для различных видов млекопитающих, лучше определяла наличие болезни Хантингтона, гетерохронного парабиоза и эффекта репрограммирования, чем существующие мульти-видовые эпигенетические часы. Несмотря на различия в энтропийных механизмах старения и возраст-зависимых заболеваний, эпигенетические часы смертности выделили для старения и некоторых хронических заболеваний человека, таких как болезнь Хантингтона, общие эпигенетические паттерны в генах, ассоциированных с развитием.

Литература

1. Mathers et al., *Br Med Bull*, 2009, **92(1)**, 7-32.
2. Belsky et al., *Elife*, 2022, **11**, e73420.
3. Levine et al., *Aging (Albany NY)*, 2018, **10(4)**, 573.

Работа выполнена в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова.

НОВЫЕ АСПЕКТЫ РЕГУЛЯЦИИ АТФ-СИНТАЗ БАКТЕРИЙ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ДЕЭНЕРГИЗАЦИИ *IN VITRO*

Третьяков Д.О.^{1,2}, Лапашина А.С.^{1,2}, Фенюк Б.А.^{1,2}

¹ Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

² Факультет биоинженерии и биоинформатики, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

Бактериальные АТФ-синтазы способны как синтезировать АТФ, так и гидролизовать его для поддержания протонного градиента на мембране. При этом важно контролировать процесс гидролиза, чтобы избежать истощения пула АТФ. Один из консервативных механизмов подавления АТФазной активности – АДФ-ингибирование, при котором фермент переходит в инактивированное состояние при связывании АДФ без фосфата¹. Однако степень проявления этого механизма значительно различается у разных видов: у *Escherichia coli* подавление слабее, чем у *Bacillus* sp. PS3¹. Неорганический фосфат, с одной стороны, ингибирует гидролиз АТФ как продукт реакции, а с другой – влияет на выраженность АДФ-ингибирования^{2,3}.

Для изучения этих процессов *in vitro* нами был разработан метод, позволяющий регистрировать изменения концентрации АТФ в присутствии как АДФ, так и фосфата. Он основан на применении селективных белковых флуоресцентных зондов². С его помощью показано, что у *E. coli* при высоких концентрациях АДФ и физиологических концентрациях фосфата (условия, моделирующие дезэнергизацию клетки) фермент теряет основную часть своей АТФазной активности, тогда как у *Bacillus subtilis* и *Bacillus sp. PS3* активность в аналогичных условиях сохраняется³⁻⁵. Кроме того, для АТФ-синтазы *Bacillus subtilis* выявлено снижение уровня АДФ-ингибирования при повышении температуры, что ранее не описывалось в литературе.

Литература

1. Lapashina AS, Feniouk BA. ADP-Inhibition of H⁺-FOF1-ATP Synthase. *Biochemistry* . 2018;83: 1141–1160.
2. Imamura H, Nhat KPH, Togawa H, Saito K, Iino R, Kato-Yamada Y, et al. Visualization of ATP levels inside single living cells with fluorescence resonance energy transfer-based genetically encoded indicators. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106: 15651–15656.
3. Mitome N, Ono S, Suzuki T. The presence of phosphate at a catalytic site suppresses the formation of the MgADP-inhibited form of F1-ATPase. *European journal of*. 2002. Available: <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.0014-2956.2002.02623.x>
4. Mizumoto J, Kikuchi Y, Nakanishi Y-H, Mouri N, Cai A, Ohta T, et al. ε subunit of *Bacillus subtilis* F1-ATPase relieves MgADP inhibition. *PLoS One*. 2013;8: e73888.
5. Amano T, Matsui T, Muneyuki E, Noji H, Hara K, Yoshida M, et al. alpha3beta3gamma complex of F1-ATPase from thermophilic *Bacillus PS3* can maintain steady-state ATP hydrolysis activity depending on the number of non-catalytic sites. *Biochem J*. 1999;343 Pt 1: 135–138.

АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА КОНЪЮНКТИВЫ ПРИ НАРУШЕНИИ МИГАТЕЛЬНОГО РЕФЛЕКСА

Тюлина В.В., Мармий Н.В., Сенин И.И.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: tyulina_nika@list.ru

Синдром сухого глаза (ССГ) – распространенное многофакторное заболевание глазной поверхности, сопровождающееся различными симптомами, такими как покраснение глаз, снижение зрения, сухость глаз¹. Недавно был выявлен новый фактор риска развития ССГ: длительная зрительная нагрузка при использовании электронных носителей визуального отображения². Это объясняется нарушением паттернов мигательного рефлекса (ПМР), включая сокращение частоты моргания и неполное смыкание век³.

Нами была разработана новая экспериментальная модель на кроликах, имитирующая нарушение ПМР. С использованием этой модели нами впервые было показано, что при нарушении ПМР происходит дисрегуляция окислительно-восстановительного баланса в конъюнктиве. Так, мы показали снижение содержания в клетках конъюнктивы антиоксиданта глутатиона и активности митохондриальной супероксиддисмутазы-2. Эти данные дают основания предположить, что нарушение окислительно-восстановительного баланса в конъюнктиве может являться одним из значимых патогенетических механизмов развития ССГ у пользователей электронных носителей визуального отображения.

Литература

1. Phadattare S., et al., *Advances in Pharmaceutics* 2015, **3**, 1-12.
2. Uchino M., et al., *Am J Ophthalmol*. 2014, **157**, 294-300.
3. Schiffman R. M., et al., *Arch Ophthalmol*. 2000, **118**, 615-621.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-25-00224.

МЕХАНО-ХИМИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ МУТАЦИЙ ФАКТОРА ФОН ВИЛЛЕБРАНДА ПРИ АДГЕЗИИ ТРОМБОЦИТОВ

Федотова И.В., Беляев А.В.^а

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: fedotova.iv18@physics.msu.ru

Белок фактор фон Виллебранда (VWF) имеет важное значение для процессов остановки кровотечения на начальных этапах гемостаза. В условиях высокого напряжения сдвига, которые возникают в артериях и артериолах при повреждении кровеносного сосуда, VWF активируется и, прикрепляясь к субэндотелиальному коллагену, обратимо связывается с мембранным рецептором тромбоцитов гликопротеином Ib (GPIb) с помощью своего домена A1. Таким образом, VWF обеспечивает замедление скорости клеток возле места повреждения сосуда и способствует образованию тромбоцитарного агрегата, останавливающего кровотечение¹.

При отсутствии мутаций A1 VWF и GPIb демонстрируют сложное биомеханическое поведение, балансируя между прочным связыванием и разрушением связи между молекулами². Мутации в структурах указанных белков могут существенно влиять на динамику их взаимодействия и приводить к болезни Виллебранда – наследственному нарушению агрегации тромбоцитов³. Разработка методов лечения подобных заболеваний требует детального понимания причин изменения процесса взаимодействия указанных молекул при наличии мутаций.

В настоящей работе методами молекулярной динамики исследуется взаимодействие GPIb и домена A1 VWF дикого типа, а также белковых структур с мутациями, приводящими к болезни Виллебранда подтипов 2M и 2B. Построена полноатомная модель, реализующая растяжение белкового комплекса GPIb–A1VWF сдвиговыми силами в условиях, близких к физиологическим условиям в кровотоке. Получены силовые характеристики и проведен анализ механо-химических особенностей процессов диссоциации связи для различных мутантных структур VWF, соответствующих болезни Виллебранда типов 2M и 2B.

Литература

1. Springer T.A., *Blood* 2014, **124(9)**, 1412-1425.
2. Belyaev A.V., et al., *Biophys Rev.* 2023, **15(5)**, 1233-1256.
3. Yago T., et al., *J Clin Invest.* 2008, **118(9)**, 3195-3207.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда развития теоретической физики и математики «БАЗИС», проект 24-2-10-4-1.

ФАКТОРЫ РИСКА И ПЕРСПЕКТИВЫ ТЕРАПИИ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

Фетисова Е.К.^а, Воробьева Н.В.^б, Мунтян М.С.^а

^а НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40, ekfetisova@gmail.com

^б Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

Рассеянный склероз (РС) – наиболее распространённое заболевание центральной нервной системы. Число страдающих РС в мире достигло 2,8 млн к 2020 г. Заболевание всё чаще диагностируется у пожилых пациентов, достигая показателя распространённости 10-26% в ряде стран. Установлен ряд факторов, повышающих вероятность развития РС. Нелеченный РС приводит к инвалидизации молодой трудоспособной части населения. У возрастных пациентов терапия РС затруднена. Выявлены особенности возрастных пациентов, усугубляющие течение заболевания¹. Обсуждаются перспективы терапии РС². В качестве мишеней рассматриваются: митохондрии с использованием митохондриально-направленных антиоксидантов; нейтрофилы и другие пораженные патологией специализированные клетки, которые можно перепрограммировать с помощью стволовых клеток; предшественники олигодендроцитов, ускоренно созревающие и вызывающие ремиелинизацию аксонов под действием

антигистаминов^{2,3}. Гельминтотерапия, сопровождающаяся изменением состава микробиоты больных РС и высвобождением антиоксидантов в ткани больных, может привести к снижению окислительного стресса и смягчению течения заболевания. Обсуждаются подходы к лечению пожилых пациентов с РС, в том числе применение митохондриально-направленных антиоксидантов нового поколения^{4,5}.

Литература

1. Fetisova, et al., *Adv. Gerontol.*, 2024, **14**(2):35-48.
2. Fetisova, et al., *Adv. Gerontol.*, 2024, **14**(3), doi:10.1134/S2079057024600769.
3. Fetisova, et al., *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2019, **2019**:2082561.
4. Antonenko, et al., *Biochemistry (Mosc.)*, 2008, **73**(12):1273-1287.
5. Skulachev, et al., *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Bioenergetics*, 2009, **1787**(5):437-461.

Работа выполнена в рамках госзадания МГУ имени М.В. Ломоносова, проекты 119121690043-3, 119031390114-5, 121042600047-9.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ НА ПРОДУКЦИЮ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ДРОЖЖЕВЫХ КЛЕТКАХ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ А-СИНУКЛЕИН

Хвастунов В.О.^{а,б}, Голева Т.Н.^а, Рогов А.Г.^а

^а Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Россия, 123182, Москва, пл. Академика Курчатова, 1

^б Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, Россия, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6
электронная почта: vadimkhvastunov@yandex.ru

Болезнь Паркинсона (БП) — это нейродегенеративное заболевание, в основе которого лежит не только дегенерация дофаминергических нейронов черной субстанции головного мозга, но и иных структур нервной системы. БП характеризуется наличием в клетках включений, известных как тельца Леви, состоящих преимущественно из агрегатов α -синуклеина, небольшого липид-связывающего транспортного белка нейронов¹.

Наличие многочисленных симптомов и сложная взаимная регуляция факторов, участвующих в патогенезе БП, привели к осознанию того, что наиболее перспективным способом изучения этих вопросов является создание упрощенных моделей для выявления ведущих факторов развития заболевания. Среди возможных модельных организмов перспективными признаны и дрожжи. В качестве модели были взяты дрожжи *Yarrowia lipolytica*, способные экспрессировать α -синуклеин. Преимуществом дрожжей *Y. lipolytica* в сравнении с другими дрожжевыми моделями является наличие митохондрий, идентичных митохондриям высших млекопитающих, что позволяет адекватно исследовать биоэнергетические изменения клетки².

В последние годы появилось много данных о роли окислительного стресса в развитии нейродегенеративных заболеваний, в том числе и БП, что говорит о большой роли митохондрий, как терапевтических мишеней³.

В данной работе была исследована активность различных антиоксидантов на дрожжах *Y. lipolytica*, экспрессирующих α -синуклеин. Мы сравнили действия митохондриально-направленных антиоксидантов семейства SkQ (SkQ1, SkQ3) и антиоксиданта схожей природы IOPC3 с немитохондриальным антиоксидантом Trolox.

Литература

1. Ganguly U., et al., *Front Aging Neurosci.* 2021, **13**, 702639.
2. Rogov A.G., et al., *Anal Biochem.* 2018, **552**, 24-29.
3. Malpartida A.B., et al., *Trends Biochem Sci.* 2021, **46**, 329-343.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

ДЕЦИЛБЕРБЕРИН – НОВЫЙ МИТОХОНДРИАЛЬНО-НАПРАВЛЕННЫЙ ИНГИБИТОР ФЕРРОПТОЗА

Хуан Х.^а, Лямзаев К.Г.^{б,в}, Пантелеева А.А.^б, Симонян Р.А.^б, Аветисян А.В.^б, Сумбатян Н.В.^г, Черняк Б.В.^б

^а Факультет биоинженерии и биоинформатики Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 73, электронная почта: 1013655996@qq.com

^б НИИФХБ им. А.Н. Белозерского Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы 1, стр. 40

^в Российский клинический научный центр геронтологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Россия, 129226, Москва, 1-ая Леонова, д. 16

^г Химический факультет Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 73

Ферроптоз это регулируемая форма клеточной гибели, которая зависит от перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазматической мембране. Ранее мы показали, что ПОЛ во внутренней мембране митохондрий критически важен для индукции ферроптоза¹⁻³. Берберин, это катионный алкалоид широко применяемый в традиционной медицине. Нами был синтезирован децилберберин (C10Verb)⁴, который (в отличие от берберина) селективно накапливается в митохондриях клеток. Показано, что C10Verb защищает от ферроптоза в различных клеточных моделях и его эффективность значительно выше, чем у берберина. С помощью флуоресцентного зонда MitoCLox, регистрирующего ПОЛ в митохондриях, показано, что C10Verb защищает митохондрии от перекисного окисления. В изолированных митохондриях C10Verb ингибировал Fe²⁺-зависимое ПОЛ лишь в восстановленной форме (децилтетрагидроберберин). Измерения спектров флуоресценции C10Verb показали, что он может частично восстанавливаться в митохондриях. Таким образом, можно предполагать, что децилберберин восстанавливается в клетках и ингибирует ферроптоз, действуя как митохондриально-направленный антиоксидант.

Литература

1. Lyamzaev KG, et al. *Cells* 2023, **12**(4), 611. doi: 10.3390/cells12040611.
2. Lyamzaev KG, et al. *Biomolecules*. 2024 **14**(6), 730. doi: 10.3390/biom14060730
3. Huan H, et al. *Front Cell Dev Biol.* 2024 **12**, 1452824. doi: 10.3389/fcell.2024.1452824
4. Lyamzaev KG, et al. *Pharm Res.* 2011, **28**(11):2883-2895. doi:10.1007/s11095-011-0504-8

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-14-00061.

ДИНАМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МИКРОТРУБОЧЕК – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ БОЛЕЗНИ ГЕНТИНГТОНА

Чуркина А.С.^а, Паско В.И.^б, Беликова Л.Д.^в, Богомазова А.Н.^в, Лагарькова М.А.^{в,г}, Алиева И.Б.^{а,г}

^а НИИ Физико-Химической Биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40, электронная почта: chur_aleks@belozersky.msu.ru

^б Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр.12

^в ФНКЦ Физико-Химической Медицины ФМБА, Россия, 119435, Москва, Малая Пироговская, д. 1а

^г Центр точного редактирования генома и генетических технологий для биомедицины, ФНКЦ Физико-Химической Медицины ФМБА, Россия, 119435, Москва, Малая Пироговская, д. 1а

Нейродегенеративное заболевание болезнь Гентингтона (БГ) – следствие полиглутаминовой мутации в гене белка гентингина (НТТ). Показано, что НТТ участвует в клеточных процессах, включающих транспорт везикул и органелл. Транспорт задействует также и микротрубочки (МТ). МТ полимеризуются из тубулина, обладают полярностью и динамическими свойствами. В качестве модельных систем мы использовали: (1) фибробласты из биоптатов кожи пациентов с БГ и здоровых доноров; культивируемые (2) нейроны и (3) глиальные клетки, полученные направленной дифференцировкой из ИПСК пациентов с БГ и здоровых доноров. Была проанализирована динамика восстановления сети МТ после ее разрушения на холоде. Для изучения динамических свойств МТ использовался метод трансфекции флуоресцентно меченым плюсконцевым белком EB3-GFP. Динамика МТ анализировалась в ImageJ с использованием плагинов и ручной трассировки. Динамику МТ изучали в различных областях клетки: в центральной части (область ядра и центросомы), на переднем крае и в хвосте фибробластов; в аксонах, телах и дендритах нейронов. Полученные результаты позволили впервые оценить *in vitro* различия в динамических свойствах МТ культивируемых фибробластов и нейронов

пациентов с ГБ и здоровых доноров, что дает возможность подойти к изучению МТ как мишеней для диагностики и возможного лечения пациентов с ГБ.

Авторы благодарят Программу развития МГУ (MSU Development Program, ПНР 5.13) и Nikon Center of Excellence при НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского за предоставление инфраструктуры.

КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ БЕТА/ГАММА-ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО АКТИНА В ФУНКЦИОНАЛЬНО АКТИВНЫХ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ

Шахов А.С., Чуркина А.С., Алиева И.Б.

*НИИ Физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр.40, электронная почта: sh.anton90@yandex.ru*

Актин — один из самых распространенных белков в клетках живых организмов. У млекопитающих присутствуют две очень близкие по аминокислотной последовательности немышечные β - и γ -изоформы актина. Цитоплазматический β -актин участвует во многих внутриклеточных процессах, включая сокращение клеток, γ -актин отвечает за подвижность клеток и способствует опухолевой трансформации. Известно, что β/γ -актины пространственно разделены в цитоплазме фибробластов и эпителиальных клеток; это разделение функционально обусловлено. Пространственное расположение β/γ -актинов в эндотелиальных клетках все еще является предметом обсуждения, поэтому для анализа колокализации двух изоформ мы использовали микроскопию сверхвысокого разрешения. Изображения эндотелиальных клеток легочной артерии человека, полученные методом SIM-микроскопии, анализировали с помощью программы ImageJ. Мы показали, что β/γ -актины колокализуются лишь частично, в определенных областях цитоплазмы эндотелиоцитов, при этом степень колокализации β/γ -актинов широко варьирует в краевых областях и вблизи ядра клетки. В базальной цитоплазме преобладает β -актин, но соотношение изоформ выравнивается по мере продвижения к апикальным областям клетки. Таким образом, анализ колокализации позволяет предположить, что β/γ -актины частично сегрегированы в цитоплазме эндотелиоцитов. Сегрегация значительно усиливается при активации клеток в процессе дисфункции эндотелиального барьера, моделируемой *in vitro*, что может свидетельствовать о различной роли двух изоформ цитоплазматического актина в функциональной активности эндотелиальных клеток.

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М. В. Ломоносова, а также в рамках Программы Развития МГУ (ПНР 5.13).

ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА ПРИ НЕКОТОРЫХ ВОЗРАСТНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЧЕЛОВЕКА

Шиловский Г.А.*, Сорокина Е.В.

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет,
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д.1 стр.12, *e-mail: gregory_sh@list.ru*

Микробиом кишечника — это сложная экосистема, которая играет важную роль в функционировании человеческого организма как в здоровом состоянии, так и при различных заболеваниях. Микробиота кишечника может оказывать влияние не только на желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), но и на весь организм в целом, определяя качество и продолжительность жизни человека, как было отмечено в исследовании¹. Каждый человек обладает уникальным микробиомом, который включает в себя множество видов грибов, архей, вирусов и эубактерий. В организме человека живет более 100 триллионов микроорганизмов. Для большинства людей характерно схожее соотношение основных типов бактерий: бактероидов (Bacteroidetes) и фирмикутов (Firmicutes). Особенно заметные изменения микробиома происходят в пожилом возрасте, когда иммунная система становится более нестабильной, что может приводить к развитию различных патологий. Одним из наиболее известных возрастных заболеваний является болезнь Альцгеймера (БА), характеризующаяся прогрессирующим снижением когнитивных функций и потерей нейронов через модуляцию нейровоспаления. Было выявлено, что при БА у людей изменяется состав микрофлоры кишечника. Обнаруживается снижение численности типов Firmicutes и Bifidobacteria, а также рода Actinomycetota, в то время как количество Bacteroidetes

и *Proteobacteri*, наоборот, увеличивается. Исследования показали, что микробиота кишечника может влиять на патогенез БА через воздействие на нейровоспаление и проницаемость желудочно-кишечного тракта. Еще одним важным фактором, способствующим развитию хронических заболеваний, таких как БА, сахарный диабет 2 типа и ожирение, является дисбаланс гомеостаза кишечной микробиоты и уровень образуемых короткоцепочечных жирных кислот (SCFA). Целенаправленное формирование микробиома кишечника с помощью бактериоцинов и других противомикробных препаратов может стать терапевтическим инструментом для профилактики и лечения различных патологий, включая возрастные. Также обсуждается положительное влияние умеренных физических нагрузок на нейродегенеративные заболевания через ось микробиом-кишечник-мозг. Предполагается, что это происходит благодаря регуляции метаболизма триптофана, что способствует росту «полезной» микрофлоры, повышающей устойчивость организма к этим заболеваниям². Препараты пробиотического консорциума восстанавливают баланс, служат защитным компонентом микробной экосистемы кишечника, повышают антиоксидантную активность супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы и оказывают ДНК-защитное действие. Разработка тест-систем биологически активных веществ, влияющих на микробиом, открывает новые возможности для создания препаратов нового поколения, направленных на продление здорового долголетия.

Литература

1. Zhang L., et al. Improving intestinal inflamming to delay aging? A new perspective // *Mech. Ageing Dev.* 2023. **214**. 111841.
2. Wang Y, et al. The role of kynurenine pathway metabolism mediated by exercise in the microbial-gut-brain axis in Alzheimer's disease // *Exp Neurol.* 2025. **384**.115070.

Данная работа выполнена в рамках госзадания МГУ имени М.В. Ломоносова.

ВЛИЯНИЕ ПРИОБРЕТЁННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К ЦИСПЛАТИНУ НА МЕТАБОЛИЗМ И ПРОЛИФЕРАЦИЮ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Япрынцева М.А.^{а,б}, Первушин Н.В.^{а,б}, Сазонова Е.В.^б, Байрамова Д.О.^а,
Вдовина Ю.А.^а, Копейна Г.С.^{а,б}, Животовский Б.Д.^{а,б,в}

^а Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта, Россия, 119992, Москва, Улица Вавилова, д. 32.,
электронная почта: smariaal@mail.ru

^б Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
^в Отделение токсикологии, Каролинский институт, Швеция, 17177 Стокгольм.

Цисплатин используется для лечения различных злокачественных новообразований. Его действие приводит к подавлению репликации, аресту клеточного цикла и запуску программируемой гибели клеток (ПГК), в том числе апоптоза и ферроптоза¹. Опухолевые клетки могут приобретать устойчивость к цисплатину, что является серьёзной проблемой в терапии. Резистентные клетки приобретают фенотип, характеризующийся избеганием ПГК и модуляцией скорости пролиферации и метаболизма².

В данной работе нами получены опухолевые клетки различного происхождения (A549, U1810, SKOV3, SW620) с приобретённой устойчивостью к цисплатину. Содержание маркеров апоптоза было снижено во всех устойчивых линиях по сравнению с исходными. У резистентной линии U1810 также наблюдалось повышение GPX4, защищающей клетки от ферроптоза. У линий A549, U1810, SKOV3 развитие устойчивости сопровождалось угнетением митохондриального дыхания. У резистентных клеток A549 и U1810 также была снижена пролиферативная активность, а в клетках A549 наблюдалось снижение активации митоген-активируемых киназ JNK1/2 и p38. Эти линии клеток при возникновении устойчивости приобретали фенотип, характеризующийся низкой пролиферативной и метаболической активностью, позволяющий им пережить токсическое воздействие. В резистентной линии SKOV3 активировалась аутофагия. Полученные данные свидетельствуют, что развитие резистентности к действию цисплатина формируется в разных клетках при помощи различных механизмов и сопровождается изменениями метаболизма и скорости пролиферации.

Литература

1. Shaloom D, et al., *Eur J Pharmacol* 2014, **740**, 364-378.
2. Fu R., et al., *Med Oncol* 2023, **41**, 9.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-74-30006.

Секция

**«Молекулярная биология
и биоинформатика»**

IN SILICO АНАЛИЗ ВАРИАБЕЛЬНОЙ ЧАСТИ ГЕНОМА ВИРУСА ГЕПАТИТА С

Аветисова И.В., Рабоштан П.Ф., Стрыгин А.В., Авилова Т.М.

*Волгоградский государственный медицинский университет,
Россия, 400066, Волгоград, Рокоссовского, 1 Г,
электронная почта: i.awetisowa@gmail.com*

Вирус гепатита С (HCV), представляющий собой РНК-вирус, способен вызывать воспалительные процессы в печени, приводя к развитию хронических заболеваний, таких как цирроз и карцинома печени. Данное заболевание получило прозвище «ласкового убийцы» из-за отсутствия ярко выраженной симптоматики у больного вплоть до возникновения терминальной стадии поражения печени. Вариабельные участки генома HCV играют важную роль в патогенезе данного заболевания, поскольку они определяют способность вируса избегать иммунного ответа организма-хозяина и адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды.

Методы *in silico* предоставляют возможность исследования структуры и функций этих вариабельных участков без необходимости выполнения затратных лабораторных экспериментов. Данный подход основан на использовании специализированных программных комплексов для моделирования молекулярной архитектуры и анализа последовательностей нуклеиновых кислот.

Кроме того, методы *in silico* позволяют предсказать потенциальные мутации в геноме вируса и оценить их влияние на вирулентность и резистентность к фармакологическим препаратам. Это способствует формированию стратегий лечения, направленных на минимизацию риска возникновения устойчивости к применяемой терапии¹⁻².

Таким образом, применение подхода *in silico* для анализа вариабельного региона генома HCV представляет собой важный инструмент для углубленного понимания биологии данного вируса и разработки высокоэффективных мер по борьбе с ним.

Литература

1. El-Sokkary M. M. A., et al., *Molecular characterization of hepatitis C virus for developed antiviral agents resistance mutations and new insights into in-silico prediction studies //Infection and Drug Resistance* 2020, 4240, 4235-4248.
2. Ejeş S., et al., *In silico design and pharmacokinetics investigation of some novel hepatitis C virus NS5B inhibitors: pharmacoinformatics approach //Bulletin of the National Research Centre* 2022 T. 46 №. 1, 109.

РОЛЬ СИСТЕМЫ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ В ФОРМИРОВАНИИ И ПРОРАСТАНИИ СПОР SACCHAROMYCES CEREVISIAE

Адамович А.М., Галкина К.В.

*НИИ физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: adamovich.arina@gmail.com*

В ответ на неблагоприятные условия окружающей среды пекарские дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* могут образовывать споры. Дрожжевая спора – это покоящаяся стадия жизненного цикла клетки с максимально замедленным метаболизмом. В этом состоянии клетки значительно более устойчивы к большому количеству стрессов. Однако в процессе прорастания, когда дрожжевая спора только начинает заново активизировать метаболические реакции, она может быть особенно уязвима к проникновению в нее токсичных химических соединений из окружающей среды. Вегетативные дрожжевые клетки активируют систему множественной лекарственной устойчивости (МЛУ), сталкиваясь с химическим стрессом. У дрожжей *S. cerevisiae* ключевую роль в этом процессе играют транскрипционные факторы (ТФ) Pdr1p и Pdr3p. При попадании в клетку химических агентов эти ТФ активируют экспрессию генов переносчиков множественной лекарственной устойчивости с широкой субстратной специфичностью, которые локализуются в цитоплазматической мембране и выкачивают чужеродные химические вещества из клетки обратно в окружающую среду.

В нашей работе мы исследовали роль ТФ Pdr1p, Pdr3p и основных переносчиков МЛУ в формировании и прорастании спор дрожжей *S.cerevisiae*. Нам удалось продемонстрировать не только важность наличия рабочей системы МЛУ в момент прорастания спор, но и необходимость ТФ Pdr1p, Pdr3p для правильного формирования тетрады спор в дрожжевой сумке после мейотического деления материнской клетки.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-74-00050.

НАУЧНЫЕ ПОДХОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ В ГЕНОМНОЙ СЕЛЕКЦИИ КЛЕВЕРА

Алексеев Е.А.^а, Ващилин В.Э.^{а,б}

^аБелгородский Государственный Аграрный Университет, им. В.Я. Горина, Россия, 308503, Белгород, п. Майский, ул. Вавилова, 1.
электронная почта: Lizaalekseenko04@gmail.com

^бБелгородский Государственный Национальный Исследовательский Университет, ул. Победы, 85, Белгород, 308015, Россия.
электронная почта: vashilin_ve@belgau.ru

Клевер (*Trifolium* spp.) является важной культурой, используемой в сельском хозяйстве для повышения плодородия почвы, улучшения кормов для скота и увеличения устойчивости экосистем. Селекция клевера на основе традиционных методов требует значительных временных затрат и ресурсов. Однако с развитием молекулярной биологии и геномной селекции открываются новые горизонты для повышения эффективности селекционного процесса.

Генетическая модификация клевера позволяет вводить или изменять конкретные гены, отвечающие за важные признаки. Например, можно повысить устойчивость к болезням или улучшить питательные свойства растения. Использование технологий CRISPR/Cas9 для редактирования генома открывает новые возможности для целенаправленного изменения генетического материала без внесения чуждых генов.

Маркер-ассистированная селекция — это метод, который использует молекулярные маркеры для отслеживания наследования желаемых признаков. Это позволяет ускорить процесс селекции, так как селекционеры могут быстро идентифицировать особи с нужными характеристиками, не дожидаясь их полного развития.

Технологии секвенирования нового поколения позволяют получать огромные объемы данных о геномах клевера с высокой скоростью и низкими затратами. Это открывает возможности для более глубокого анализа генетической вариативности и выявления новых селекционных признаков.

Литература

1. Murray, S. C., & Wang, D. (2019). "Genomic selection in legumes: Advances and challenges." *Frontiers in Genetics*, 10, 123. DOI: 10.3389/fgene.2019.00123.
2. Rao, S. K., & Prasad, V. (2020). "Genomic tools for legume improvement: Current status and future directions." *Plant Science*, 293, 110424. DOI: 10.1016/j.plantsci.2020.110424.
3. Zhou, G., & Wang, Y. (2021). "Genomic insights into the genetic diversity and evolution of legumes." *BMC Genomics*, 22, 1-15. DOI: 10.1186/s12864-021-07827-7. Автор., et al., *Biochimie* 2023, 204, 136-139.

РЕКОНСТРУКЦИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПУТЕЙ ДЕГРАДАЦИИ ПОЛИСАХАРИДОВ БАКТЕРИЯМИ КИШЕЧНИКА РОДА PREVOTELLA

Ашников Г.А.^{а,б,в}, Гельфанд М.С.^{а,б,в}, Родионов Д.А.^а

^а Институт проблем передачи информации имени А. А. Харкевича РАН, Москва, Россия,

^б Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва, Россия,

^в Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

Полисахариды, такие как инулин, пектин, ксилан, ламинарин и хитин, входят в состав рациона и способны влиять на микробиоту человека, следовательно, оказывают влияние на общее благосостояние организма носителя. Процесс ферментации полисахаридов комменсальными бактериями кишеч-

ника, сопровождается различными факторами, которые могут как поддерживать, так и дестабилизировать иммунный и метаболический баланс в организме¹.

Изучение метаболических путей деградации полисахаридов бактериями кишечника человека является комплексной задачей, в которую входят анализ референсных коллекций полногеномных последовательностей бактерий, метаболомика на основании встречаемости необходимых для ферментации белков и регуляторных элементов, а также метаболомика с целью определения фенотипа бактерий референсной коллекции. Реконструкция путей деградации полисахаридов позволяет уточнить и расширить понимание механизмов утилизации и функциональной значимости рода *Prevotella* для деградации пищевых полисахаридов в толстой кишке человека².

Повышенная частота встречаемости бактерий рода *Prevotella* при анализе состава комменсальной микробиоты человека является биомаркером особого типа диеты с повышенным содержанием простых и сложных пищевых полисахаридов. Также отмечается положительная корреляция встречаемости бактерий рода *Prevotella* при возникновении дисбиозов и других расстройств кишечника³. Цель исследования состоит в том, чтобы использовать сабсистемный подход для аннотации геномов представителей микробного сообщества кишечника для последующей реконструкции метаболических путей деградации различных полисахаридов, таких как инулин, пектин, ксилан, ламинарин и хитин.

В ходе данного исследования сабсистемный подход был применен к 314 полногеномным последовательностям бактериальных штаммов 12 видов бактерий рода *Prevotella* населяющих кишечник человека. Реконструированные пути деградации полисахаридов включают как одно-, так и многоступенчатые ферментативные реакции утилизации пищевых полисахаридов. В ходе анализа было установлено, что основными из рассматриваемых субстратов являются инулин и пектины.

Таким образом, проведенная реконструкция метаболических путей деградации полисахаридов бактериями рода *Prevotella* предоставляет информацию для глубокого понимания механизма ферментации пищевых полисахаридов.

Результаты проведенного анализа могут найти применение в клинической практике, особенно в области профилактики заболеваний. Что позволит клиническим специалистам проводить разработку эффективных методов по оптимизации кишечной микробиоты и улучшению общего состояния здоровья пациентов.

Литература

1. Gan L, et al., (2022) Polysaccharides influence human health via microbiota-dependent and -independent pathways. *Front. Nutr.* 9:1030063. doi: 10.3389/fnut.2022.1030063
2. Flint, H., et al. Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis. *Nat Rev Microbiol* 6, 121–131 (2008). doi.org/10.1038/nrmicro1817
3. G. Precup and D.-C. Vodnar, "Gut *Prevotella* as a possible biomarker of diet and its eubiotic versus dysbiotic roles: a comprehensive literature review," *British Journal of Nutrition*, vol. 122, no. 2, pp. 131–140, 2019. doi:10.1017/S0007114519000680

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ, проект 24-14-00276.

КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОМАРКЕРОВ В ЭЯКУЛЯТАХ МОЛОДЫХ ЛЮДЕЙ

**Безуглов В.С.^а, Штратникова В.Ю.^а, Соловьёва Н.А.^б,
Вавилов Н.Э.^б, Згода В.Г.^б, Ашапкин В.В.^а, Сергеев О.В.^{а,в}**

^а НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,

^б Институт биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича,
119121, Россия, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8

^в Центр молекулярной и клеточной биологии Сколковского института науки и технологий,
Большой бульвар. 30, Сколково, Московская область, 143025, Россия,
электронная почта: vitality1530@gmail.com

Цель исследования. Изучение профилей протеома, малых некодирующих РНК (мнРНК) и их взаимосвязи в различных компонентах эякулятов молодых людей.

Методы. Образцы 10 пар повторных эякулятов 18-19-летних участников проспективного когортного Российского исследования детского здоровья (РИДЗ) были использованы для количественного анализа протеома с помощью панорамной и таргетной масс-спектрометрии (МС) в семенной плазме (СП) и внеклеточных везикулах (ВВ), а также для идентификации мнРНК с помощью РНК-секвенирования в ВВ и сперматозоидах.

Результаты. В результате панорамной МС было достоверно обнаружено 420 и 979 белков в СП и ВВ, соответственно; 256 микроРНК, 62 пиРНК, 159 тРНК и 77 фтРНК в ВВ и 104 микроРНК, 230 пиРНК, 136 тРНК и 13 фтРНК в сперматозоидах. Наиболее распространенными из 14 белков, определяемых в СП методом таргетной МС, были простатический специфический антиген (KLK3), простатическая кислая фосфатаза (PPAP) и пролактин-индуцируемый белок. Наиболее распространенным белком в ВВ был PPAP, концентрация которого была в 20 раз выше, чем в СП. В ВВ мы идентифицировали 7 микроРНК, которые отрицательно коррелировали ($r < -0.7$), а piR-28763 положительно коррелировала с концентрацией KLK3 в ВВ ($r > 0.7$). В ВВ мы идентифицировали 17 мнРНК, коррелирующих с концентрацией 4 белков в ВВ и 86 мнРНК, коррелирующих с концентрацией 5 белков в СП.

Заключение. Наши исследования дают комплексную характеристику биомаркеров в различных компонентах эякулята молодых мужчин.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда Интеллект Института искусственного интеллекта МГУ; РФФИ, проект 20-015-00458; РФФИ, проект 18-15-00202; Национальный институт наук об окружающей среде и здоровье (NIHES), США, № R01 ES014370 — родительское РИДЗ.

ПОИСК МЕХАНИЗМОВ ПРИОБРЕТЕНИЯ ОПУХОЛЕВЫМИ КЛЕТКАМИ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ЦИСПЛАТИНУ ПОД ВЛИЯНИЕМ СЕКРЕТОМА, ИНДУЦИРОВАННОГО ТЕРАПИЕЙ

**Бекбаева И.В.^{а,б}, Шнайдер П.В.^а, Иванова О.М.^а, Лашкин А.И.^а,
Шендер В.О.^{а,в}, Ануфриева К.С.^а, Арапиди Г.П.^{а,б,в}**

^а ФНКЦ Физико-Химической Медицины им. академика Ю.М. Лопухина ФМБА,
119435, Москва, Малая Пироговская, д. 1а,
электронная почта: bekbueva.iv@phystech.edu

^б Московский физико-технический институт, 141701, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок, д.9,

^в Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997, Москва, улица Миклухо-Маклая, д. 16/10.

Цисплатин применяется при терапии аденокарциномы яичника в связи с его способностью повреждать ДНК опухолевых клеток и вызывать апоптоз. Приобретаемая резистентность к цисплатину, в основном, объясняется активацией процессов репарации и изменения регуляции клеточного цикла в опухолевых клетках. Ранее нами было описано приобретение резистентности к химиотерапии реципиентными клетками при инкубации с внеклеточными везикулами от донорных апоптотических опухолевых клеток¹.

В данной работе на модели аденокарциномы яичника мы исследовали изменения транскриптома и обуславливающие их молекулярные механизмы в реципиентных клетках под воздействием везикул от донорных клеток, погибающих под действием цисплатина. Для опухолевых клеток линий SKOV3 и A2780 было показано, что секретом, индуцируемый терапией (therapy-induced secretome, TIS), способствует приобретению резистентности к терапии. Аналогичные эксперименты с линиями hTERT FT282, HaCaT и фибробластов не привели к появлению резистентности у реципиентных клеток. По данным транскриптомного анализа в опухолевых клетках активировались процессы сплайсинга РНК, регуляции клеточного цикла и репарации ДНК.

Для поиска молекулярных механизмов, которые запускаются компонентами TIS и вызывают изменения транскриптома, по данным белок-белковых взаимодействий был построен граф клеточных сигнальных каскадов. Анализ протеомных данных позволил определить белки, которые встречаются только в TIS и могут запускать сигнальные каскады. По результатам анализа открытых данных было показано, что транскрипционные факторы FOXM1 и MYBL2 могут влиять на изменения транскриптома в SKOV3 после обработки TIS.

Литература

1. Shender VO, et al., *Nat Commun* 2024, 15, 5237.

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ МИГРАЦИИ ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ДЦРНК

Бетенькова Р.Ю.^{а,б}, Бураков А.В.^{а,б}

^а *Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
факультет биоинженерии и биоинформатики, 119234 Москва, Россия,
электронная почта: rbetenkova@gmail.com*

^б *НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
119992 Москва, Россия*

Способность различных клеток к направленному движению обеспечивает протекание многих процессов в организме. В частности, миграция клеток эндотелия происходит при образовании новых сосудов или при их повреждениях. Целью данной работы являлось исследование механизмов регуляции миграции эндотелиальных клеток под воздействием двухцепочечной молекулы РНК (дцРНК).

На поверхности и внутри эндосом многих типов клеток, включая эндотелиоциты, находится рецептор TLR3, распознающий (дцРНК). Мы наносили экспериментальную рану монослоя эндотелиальных клеток линии EA.hy926 и анализировали ее зарастание с помощью цейтраферной световой микроскопии в контроле и при добавлении дцРНК. Оказалось, что дцРНК в форме poly(I:C) увеличивала скорость миграции клеток примерно в два раза. Добавление дцРНК также вызывало повышение экспрессии хемокина интерлейкина-8 (IL-8) и трансформирующего фактора роста бета (TGF- β). Известно, что TGF- β играет ключевую роль в стимуляции эндотелиально-мезенхимального перехода и миграции эндотелиальных клеток. И действительно, в наших экспериментах мы наблюдали увеличение уровня флуоресценции VE-кадгерина – маркера эндотелиально-мезенхимального перехода (EndMT) – на краях экспериментальной раны. Мы предполагаем, что действие хемокинов в комбинации с EndMT стимулирует миграцию эндотелиальных клеток. Полученные результаты расширяют представления о воздействии дцРНК на эндотелий и механизмах регуляции миграции клеток.

ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ мРНК НА ТЕРМИНАЦИЮ ТРАНСЛЯЦИИ ЭУКАРИОТ

Бизяев Н.С.^а, Шувалов А.В.^а, Шувалова Е.Ю.^а, Салман А.^{а,б}, Соколова Е.Е.^а, Егорова Т.В.^а, Алкалаева Е.З.^а

^а Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Россия, 119991, Москва, ул. Вавилова, д. 32.

^б Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет),
117303, Москва, Керченская улица, 1А, корп. 1
электронная почта: bizyaev@eimb.ru

На стоп кодоне, помимо терминации трансляции, могут протекать и другие процессы, такие как сквозное чтение, сдвиг рамки считывания, нонсенс-опосредованный распад мРНК и др. С другой стороны, в редких случаях процесс терминации трансляции может протекать и на смысловом кодоне. Таким образом, возникает вопрос о том, какие молекулярные механизмы определяют выбор события, которое произойдет на конкретном кодоне. В различных исследованиях показано, что структурные элементы мРНК, такие как кэп, контекст стоп кодона, наличие и длина поли(А) хвоста, а также состав и модификации рибосомных комплексов и факторов трансляции, формируют окружение, определяющее вероятность протекания каждого из этих событий. Однако, понимание механизмов, определяющих цепь событий на стоп кодоне, на сегодняшний день отсутствует. Поэтому мы изучили влияние этих элементов на трансляцию в реконструированных системах и показали, что: 1) Эффективность терминации трансляции и стабильность претерминационного комплекса зависят от 5' контекста стоп кодона. 2) Тип стоп кодона определяет как эффективность терминации трансляции, так и эффективность сквозного чтения. 3) 3' контекст стоп кодона влияет на эффективность сквозного чтения стоп кодона независимо от терминации трансляции. 4) Пространственное сближение поли(А) хвоста и стоп кодона обусловлено структурой мРНК и необходимо для стимулирования терминации трансляции белком РABP. 5) Длина поли(А) хвоста определяет эффективность терминации трансляции и в клетках млекопитающих имеет оптимальный размер 75 нт.

ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ СОЗРЕВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП мЯРНК

Болихова А.К.^{а,б}, Буян А.И.^{в,г}, Рубцова М.П.^в, Донцова О.А.^{а,б,в}, Сергиев П.В.^{а,б,в}

^а Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Москва, Россия

^б Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

^в Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия

^г Институт белка РАН, Пущино, Россия

Электронная почта: anastasia_b7@mail.ru

РНК — обширный класс молекул, выполняющих разнообразные функции в живой клетке. Каждый тип РНК для функционирования должен пройти определенную последовательность шагов созревания. В представленной работе мы изучаем один из основных этапов созревания сплайсосомных малых ядерных РНК (мяРНК). Данные молекулы синтезируются в виде более длинных предшественников, после чего происходит поэтапное отрезание 3'-хвостов мяРНК сначала в ядре, а затем в цитоплазме. Однако точная длина предшественников мяРНК на каждом из этих этапов изучена слабо¹. мяРНК входят в каталитический центр сплайсосомы, поэтому верное их созревания необходимо для корректного сплайсинга и, как следствие, получения правильной последовательности матричной РНК.

Мы поставили цель определить динамику синтеза и отрезания хвостов различных мяРНК. Используя метод выделения новосинтезированной РНК за 5-этилируридин с последующим высокопроизводительным секвенированием², мы предположили длину предшественника каждой мяРНК, а также рассчитали скорость укорачивания 3'-области в процессе созревания.

мяРНК имеют множество копий в геноме, только часть из которых служит матрицей для синтеза функциональных молекул³. Ориентируясь на наиболее экспрессируемые копии, мы показали, что динамика преобразования 3'-области отличается не только между типами мяРНК, но и между различными копиями одного и того же типа.

Различия в созревании 3'-области разных типов мяРНК расширяет понимание динамической регуляции сплайсинга за счет поддержания определённого соотношения компонентов сплайсосомы.

Литература

1. Pánek, J., Roithová, A., Radivojević, N. et al., The SMN complex drives structural changes in human snRNAs to enable snRNP assembly. *Nat Commun.* 2023, 14, 6580.
2. Bolikhova, A. K., Buyan, A. I. et al., Study of the RNA splicing kinetics via in vivo 5-EU labeling. *RNA (New York, N.Y.)* 2024, 30(10), 1356–1373.
3. Marz, M., Kirsten, T., & Stadler, P. F., Evolution of spliceosomal snRNA genes in metazoan animals. *Journal of molecular evolution* 2008, 67(6), 594–607.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 21-64-00006.

СТРУКТУРА ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ, КАК ОСНОВНОЙ РЕГУЛЯТОР ПАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ *E. COLI*

**Борзенко Н.И., Побегуц О.В., Галямина М.А., Авшалумов А.С.,
Уразаева Д.Р., Михайлычева М.В., Горбачев А.Ю.**

*Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. Ю. М. Лопухина ФМБА России,
119435, Москва, Малая Пироговская ул., д. 1А
Электронная почта: nataliaborzenko01@mail.ru*

В кишечнике при болезни Крона в период активного воспаления преобладает адгезивно-инвазивный фенотип *E. coli* (АИЕК). Длительный рост АИЕК на среде, содержащей пропионат, способствует увеличению вирулентных свойств, а на среде, содержащей глюкозу, наоборот – их снижению. Сравнительный анализ геномов вирулентной и невирулентной формы не выявил значимых изменений, что предполагает эпигенетическую природу регуляции данных изменений.

E. coli вирулентного и невирулентного фенотипа могут иметь отличия в строении внешней мембраны. Липополисахариды (ЛПС) – основной компонент внешней мембраны, обеспечивающий ее структурную и функциональную целостность. ЛПС состоят из липида А, центрального олигосахарида и высоковариабельного О-антигена. О-антиген – важнейший фактор вирулентности бактерий, изменения в его структуре и в структуре ЛПС могут привести к потере вирулентности. При изменении источника углерода в среде культивирования с глюкозы на пропионат для клинического изолята *E. coli* (ZvL2), полученного от больного с болезнью Крона, наблюдаются изменения в протеоме – увеличение содержания белков, ответственных за биосинтез, транспорт и модификацию ЛПС.

Целью работы является проведение сравнительного анализа структуры липополисахаридов АИЕК изолята ZvL2, культивируемого на средах с добавлением глюкозы и пропионата.

Результаты. Отработан протокол оценки структуры липополисахаридов методом разделения в полиакриламидном геле. Установлены различия в структуре ЛПС для вирулентного и невирулентного фенотипа изолята ZvL2, которые свидетельствуют о том, что адгезивно-инвазивные свойства ZvL2 связаны с перестройкой ЛПС.

Литература

1. Pobeguts O. V. et al., *International Journal of Molecular Sciences.* 2024, 25, №. 18, 10118.
2. Hölzer S. U. et al., *Infection and immunity.* 2009, 77, №. 12, 5458-5470.

ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА ЦИБРИДНЫХ ЛИНИЙ С НАРУШЕНИЯМИ МИТОФАГИИ И АПОПТОЗА

Борисов Е.Е.^а, Омельченко А.В.^б, Косырева А.М.^а

^а «НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына» ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» Россия, 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, 3, электронная почта: borisovevgenij5@gmail.com

^б НИИ ФГБНУ Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8.

Существуют митохондриальные мутации, обнаруживаемые в клетках, выделяемых из атеросклеротических бляшек¹. Была создана коллекция цибрид – линий с одинаковым ядерным геномом, несущих митохондрии с данными мутациями². Изучая воздействие на эти клетки модулятора митофагии, разобщителя FCCP, мы охарактеризовали часть линий как дефектные по митофагии. Работая с двумя линиями, ТС-520 и ТС-522, дефектной и нормальной по митофагии, мы обнаружили, что линия ТС-520 содержит больше АФК в цитоплазме, по сравнению с линией ТС-522. Уровень АФК оценивали проточной цитометрией на приборе CytoFLEX красителем H2DCFDA. Оценка апоптоза в норме и при стимуляции FCCP показала, что у линии ТС-520 также нарушен внутренний путь апоптоза, контролируемый митофагическими белками. Уровень апоптоза сравнивали по экспрессии генов-маркеров методом RT-qPCR и оценкой относительного числа апоптотически-гибнущих клеток проточной цитометрией. Изучение транскриптомов линий ТС-520, ТС-522 и родительской линии ТНР-1 выявило повышенную экспрессию 21 митохондриального гена в цибридах, по сравнению с родительской линией. При этом в линии ТС-520 с дефектной митофагией экспрессия 12 митохондриальных генов ниже, чем в линии ТС-522 с нормальной митофагией. Секвенирование кДНК библиотек проводили на приборе Illumina NovaSeq 6000 и анализировали пакетами hisat2, samtools и htseq-count. Мы связываем эти наблюдения с состоянием митохондриального генома линии ТС-520 и с адаптацией клетки к накоплению атеросклероз-ассоциированных митохондриальных мутаций.

Литература

1. Sobenin I.A., Sazonova M.A. et al. Changes of mitochondria in atherosclerosis: Possible determinant in the pathogenesis of the disease. *Atherosclerosis* 2013, 227(2), 283-288. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.01.006.
2. Wilkins H.M., Carl S.M. Cytoplasmic hybrid (cybrid) cell lines as a practical model for mitochondriopathies. *Redox Biology* 2014, 2, 619-631. doi: 10.1016/j.redox.2014.03.00.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-65-00027.

ПОИСК ГЕНОВ-ФАКТОРОВ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ПРОТОНОФОРАМ МЕТОДОМ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ (BARSEQ)

Бурлака А.А.^а, Галкина К.В.^б, Азбарова А.В.^б, Кнорре Д.А.^б

^а Факультет Биоинженерии и Биоинформатики, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: zok.miodov.27@gmail.com

^б НИИ физико-химической биологии, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1.

Протонофоры вызывают разобщение дыхания и фосфорилирования. Это могло бы иметь терапевтическое значение, например, в случае ожирения. Однако протонофоры, как правило, токсичны¹. Для системного поиска факторов, обуславливающих чувствительность или устойчивость к протонофорам, использовали принцип хемогенетического скрининга. Делеционная коллекция дрожжей (Yeast KnockOut Collection, YKOC) включает около 5000 штаммов с нокаутированными генами, каждый из которых содержит уникальный нуклеотидный баркод в геноме^{2, 3}. Обработка пула штаммов YKOC химическими веществами позволяет идентифицировать штаммы, чувствительные или устойчивые к данному конкретному веществу⁴. Для этого ДНК выделяется из пула YKOC до и после обработки. Участки баркодов амплифицируются и секвенируются с использованием методов NGS. После подсчета частот баркодов можно определить скорость роста каждого штамма в смеси. Мы провели такой хемогенетический скрининг для трех протонофоров: FCCP, пентахлорофенол, никлозамид. При помощи разработанного метода подсчета, мы определили скорости роста и значимость ее изменения

в сравнении с контрольной для этого штамма и исключили респираторно некомпетентные штаммы. В результате скрининга мы обнаружили, что делеция гена фактора устойчивости к 6-азаурацилу *SNG1* вызывает повышенную чувствительность к пентахлорфенолу, что может быть обусловлено его участием в расщеплении протонофора. Делеция генов *RPSOB* (кодирует компонент малой субъединицы рибосомы) и *LSM6* (кодирует белок, участвующий в деградации мРНК) вызывает устойчивость к FCCP и пентахлорфенолу.

Литература

1. Kotova, E.A., et al., *Acta Naturae* 2022, 14(1):4-13.
2. Giaever, G., et al., *Genetics* 2014, 197(2), 451–465.
3. Puddu, F., et al., *Nature* 2019, 573(7774), 416–420.
4. Lee, A. Y., et al., *Science (New York, N.Y.)* 2014, 344(6180), 208–211.

РАЗРАБОТКА СТРУКТУР БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ МЕТОДАМИ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ И РАДИОЛИГАНД-РЕЦЕПТОРНОГО АНАЛИЗА

**Бутылин А.А.^а, Вьюнова Т.В.^{а,в}, Андреева Л.А.^в, Шевченко К.В.^в,
Нагаев И.Ю.^в, Лавров М.И.^г, Мусиенко П.Е.^{а,д,е}, Мясоедов Н.Ф.^в**

^а Лаборатория нейрореабилитационных технологий, ООО «ЛИФТ Центр», Россия,
121205, г. Москва, Большой бульвар, д. 30, стр. 1
a.butylin2002@gmail.com

^б Сколковский институт науки и технологий, территория инновационного центра Сколково,
Россия, 121205, г. Москва, Большой бульвар, д. 30, стр. 1

^в Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Россия,
123182, Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1, nrcki@nrcki.ru

^г Химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 3.

^д Институт трансляционной биомедицины Санкт-Петербургского государственного университета, Россия,
119071, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9, пом. 1050.

^е ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий», Москва,
Россия, 117513, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1, стр. 10

Лекарственные препараты на основе регуляторных пептидов демонстрируют высокую эффективность в условиях клиники, а также отсутствие нежелательных побочных эффектов при длительном применении. Нами представлен подход к разработке регуляторных нейропептидов и их модифицированных аналогов, селективно взаимодействующих с конкретными подтипами нейрорецепторов. Подход сочетает комплекс методов молекулярного моделирования и радиолиганд-рецепторный анализ. Основной мишенью стали AMPA рецепторы глутамата, а в качестве селективной референсной молекулы — их позитивный аллостерический модулятор (PAM-43). Был синтезирован пептид со структурой (WPPW), которая стерически сходна со структурой PAM-43. Методом радиолиганд-рецепторного анализа было показано, что пептид (WPPW) активно влияет на специфическое связывание PAM-43. Мы проанализировали эффективность различных методов аннотирования комплексов лиганд-рецептор: AutoDock Vina, AutoDock 4 (Lamarckian Genetic Algorithm), AlphaFold 3 и Boltz-1. Результаты, полученные как классическими, так и современными методами молекулярной стыковки на основе модели искусственного интеллекта, показали, что пептид и его Вос-защищенный аналог (Вос-WPPW) могут конкурировать с сайтами специфического связывания PAM-43 на AMPA-рецепторе.

Работа выполнена при поддержке ООО «ЛИФТ Центр» и Национального исследовательского центра «Курчатовский институт».

СТРУКТУРА В-КЛЕТОЧНОГО РЕПЕРТУАРА У ПРЕДСТАВИТЕЛЯ СЕМЕЙСТВА ВЕРБЛЮДОВЫХ *LAMA PACOS*

Буфеева Л.С.^а, Мерзляк Е.М.^а, Мышкин М.Ю.^а, Староверов Д.Б.^а,
Чумаков С.П.^а, Британова О.В.^а, Чудаков Д.М.^а

^а Институт биоорганической химии имени М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН,
Россия, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10,
электронная почта: ls.bufeeva@gmail.com

Получение новых антител к различным мишеням является приоритетной задачей фармацевтики, поскольку терапевтические моноклональные антитела применяются для лечения все большего числа заболеваний. Представители семейства верблюдовых, помимо конвенциональных антител, обладают одноцепочечными иммуноглобулинами (HCAbs), состоящими только из тяжелых цепей и относящимися к изотипу IgG. Эти антитела характеризуются высокой аффинностью и специфичностью, что делает их перспективными для использования в процессе иммунизации. Изучение структуры В-клеточного репертуара и процессов созревания иммунного ответа играет ключевую роль в идентификации специфических антител.

Мы разработали методику получения и анализа В-клеточного репертуара альпаки, включающую пробоподготовку кДНК-библиотеки методом 5'-RACE для всех изотипов иммуноглобулинов, NGS-секвенирование и биоинформатический анализ.

Анализ В-клеточного репертуара показал, что в периферической крови альпаки преобладают изотипы IgM и IgE. Выявлено неравномерное распределение переменных сегментов среди различных изотипов. Последовательности с сегментами семейства $v3$ составляют 90% репертуара HCAbs, тогда как конвенциональные антитела характеризуются большим разнообразием. Также обнаружены различия в длине CDR3 между изотипами: самые длинные CDR3 выявлены у HCAbs и IgM. HCAbs обладают более высокой клональностью по сравнению с конвенциональными антителами. Обнаруженные кластеры, содержащие HCAbs и другие изотипы, свидетельствуют о возможном использовании идентичных переменных доменов различными группами антител.

КОМПОЗИТНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ КРЕМНИЯ-ЗОЛОТА: ФИЗИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ УСИЛЕНИЯ СИГНАЛА КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ И КОНТРОЛИРУЕМАЯ ДОСТАВКА ЛЕКАРСТВ

Васильева М.И.^а, Назаровская Д.А.^а, Первушин Н.В.^а, Тюрин-Кузьмин П.А.^{а,б}, Осминкина Л.А.^{а,б}

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

^б Институт биологического приборостроения РАН, Пущино, Россия
электронная почта: vasilova.mi21@physics.msu.ru

Метод спектроскопии комбинационного рассеяния света (КР) является мощным инструментом для исследования биомолекул, клеточных структур и лекарственных препаратов в биомедицине. Он основан на взаимодействии электромагнитного излучения с исследуемым объектом, в результате чего в спектре рассеянного света возникают полосы, характерные для определенных молекулярных вибраций. Однако низкая интенсивность сигнала КР ограничивает его применение для анализа малых концентраций биологически значимых соединений. Для повышения чувствительности метода используется гигантское комбинационное рассеяние (ГКР), обусловленное локализованным поверхностным плазмонным резонансом на наноструктурированных металлических поверхностях.

В данной работе синтезирован новый композитный наноматериал на основе мезопористых наночастиц кремния, модифицированных золотом (Au-пКНЧ), и исследована возможность его применения для усиления спектрального сигнала лекарственного препарата сунитиниба. Разработана методика загрузки сунитиниба в поры композитных наночастиц, при этом эффективность загрузки составила ~70%. Проведенные исследования методом ГКР-спектроскопии позволили выявить значительное усиление сигнала комбинационного рассеяния от молекул сунитиниба, что подтверждает наличие эффекта плазмонного резонанса, обусловленного присутствием наночастиц золота. Анализ цитотоксичности Au-пКНЧ, загруженных сунитинибом, продемонстрировал, что их накопление в цитоплазме

клеток сопровождается индукцией апоптоза, что подтверждается морфологическими изменениями клеток и характерным спектральным профилем КР. Полученные результаты свидетельствуют о высокой перспективности использования композитных наноструктур на основе мезопористого кремния и золота для контролируемой доставки лекарственных препаратов, их спектральной идентификации и исследования механизма их действия на клеточном уровне.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-15-00137 и фонда развития теоретической физики и математики «БАЗИС» 23-2-2-18-1.

СОБЫТИЯ ЭКТОПИЧЕСКОЙ ГЕННОЙ КОНВЕРСИИ В КОНТЕКСТЕ ТРЕХМЕРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ХРОМАТИНА

Вахрушева О.А.^{а,б}

^а Центр молекулярной и клеточной биологии Сколковского института науки и технологий, 121205, Москва, Территория Инновационного Центра «Сколково», Большой бульвар д. 30, стр. 1, электронная почта: O.Vakhrusheva@skoltech.ru

^б Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 119991, Москва, ул. Губкина д. 3.

Генная конверсия – это процесс, который выражается в замене определенного участка генома на последовательность из гомологичного локуса. Чаще всего генная конверсия происходит между аллелями одного гена, но может происходить и между паралогами, в таком случае говорят об эктопической генной конверсии. В результате эктопической генной конверсии последовательность геномного участка замещается на паралогичную последовательность. Этот процесс может приводить к появлению вредных мутаций. В частности, ряд наследственных заболеваний человека вызывается мутациями, которые, по всей видимости, возникли в результате эктопической генной конверсии¹. Ранее было показано, что вероятность конверсии выше для паралогов, которые находятся близко друг к другу в линейной последовательности генома^{2,3}. В связи с этим интересным представляется вопрос о том, существует ли зависимость между вероятностью эктопической генной конверсии и тем, как часто паралоги контактируют друг с другом в структуре мейотического хроматина. В данной работе мы исследуем этот вопрос с использованием данных об организации мейотического хроматина *Mus musculus*⁴. Наши результаты указывают на то, что события генной конверсии чаще происходят между паралогами, для которых наблюдается повышенная частота контактов в мейотическом хроматине. Это наблюдение не может быть объяснено линейным расстоянием между паралогами в последовательности генома и справедливо как для паралогов из активного А компартмента, так и неактивного В компартмента.

Литература

1. Chen J.-M., et al., *Nat. Rev. Genet.* 2007, 8, 762–775.
2. Ezawa K., et al., *Mol. Biol. Evol.* 2006, 23, 927–940.
3. Goldman A. S., et al., *Genetics* 1996, 144, 43–55.
4. Alavattam K. G., et al., *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2019, 26, 175–184.

РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСА НА ОСНОВЕ МИРНК ДЛЯ ПОДАВЛЕНИЯ РИНОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Виноградова К.В.^{а,б}, Тимотиевич Е.Д.^а, Ковчина В.И.^а,
Тюлюбаев В.В., Русак Т.Е.^а, Шиловский И.П.^а, Хаитов М.Р.^{а,г}

^а Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, 115522, г. Москва, Российская Федерация

^б Московский физико-технический институт, 141700 Московская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок, 9

^г Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, г. Москва, Российская Федерация

Риновирусы человека (HRV) являются основными возбудителями инфекционных заболеваний верхних дыхательных путей. Из-за множества серотипов HRV разработка вакцин и противовирусных препаратов затруднена^{1,2}. Целью исследования была разработка малых интерферирующих РНК (миРНК),

способных подавлять репликацию риновируса. В ходе исследования для выявления наиболее консервативных участков в геноме риновируса были проанализированы референтные геномы трех типов риновируса. Далее были спроектированы 125 вариантов миРНК, из которых 7 наиболее перспективных были выбраны для синтеза и оценки противовирусной активности *in vitro* на модели репликации HRV. Максимальным противовирусным эффектом обладали два спроектированных варианта, которые уменьшали титр вируса в 8 и 7 раз. По данным количественного ПЦР максимальным противовирусным эффектом обладали эти же варианты, обеспечивая уменьшение количества копий вирусной РНК в 20 и 12 раз. Далее были сформированы комплексы миРНК и катионного разветвленного пептида-носителя КК-46. Оба варианта миРНК в комплексе с пептидом статистически значимо снижали титр вируса по сравнению с отрицательным контролем в 61 раз. Таким образом, в данном исследовании выявлены наиболее консервативные регионы в геноме риновируса, осуществлен дизайн миРНК и доказан их противовирусный эффект в экспериментах *in vitro*. Далее, противовирусная активность комплексов будет изучена на модели HRV инфекции у мышей. Созданные молекулы миРНК могут быть активными компонентами противовирусных лекарственных средств.

Литература

1. Rollinger J.M., Schmidtke M. *Med Res Rev.* 2011; 31(1):42-92.
2. Hayashi Y., et al., *Viruses.* 2022; 14(12):2616.

ОПТИМИЗИРОВАННАЯ ПРОЦЕДУРА ИММУНОМЕЧЕНИЯ ДЛЯ ПРОСВЕЧИВАЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ

Внукова А.А.^а, Багров Д.В.^а, Якупова Р.Д.^б, Ивин Ю.Ю.^б, Ковпак А.А.^б, Пиняева А.Н.^б

^аБиологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,
Ленинские горы, д. 1/12, Москва, 119234, Россия,
электронная почта: biochem.fap@ya.ru

^бФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита),
посёлок Института полиомиелита, вл8к1, поселение Московский, Москва, 108819, Россия.

Иммуномечение позволяет решить проблему идентификации белоксодержащих объектов, исследуемых с помощью просвечивающей электронной микроскопии. Суть метода заключается в выявлении специфичных антигенов на поверхности образца с помощью первичных антител и последующего проявления этих антител конъюгатами на основе наночастиц золота. Однако, иммуномечение редко применяют на практике, так как оно представляет собой трудоёмкую процедуру, занимающую 3–5 часов^{1, 2}.

Нам удалось адаптировать методику, чтобы сократить время до ~2 часов за счёт уменьшения времени шагов инкубации, блокировки и отмычки; в качестве проявляющего агента использовали конъюгаты коллоидного золота с белком А. Наша методика была использована для исследования двух образцов – внеклеточных везикул из среды культивирования клеток МСF7³ и инактивированного вируса полиомиелита типа I штамма Sabin. В обоих случаях специфичность связывания составила более 85%.

Оптимизированная методика иммуномечения в дальнейшем может быть полезна для исследования широкого круга биологических объектов.

Литература

1. Corona ML, Hurbain I, Raposo G, van Niel G. Characterization of Extracellular Vesicles by Transmission Electron Microscopy and Immunolabeling Electron Microscopy, *Methods in Molecular Biology* 2023, 2668, 33-43.
2. Gulati, N. M., Torian, U., Gallagher, J. R., Harris, A. K. Immunoelectron microscopy of viral antigens. *Current Protocols in Microbiology* 2019, 53, e86.
3. Semina, S.E., Scherbakov, A.M., Vnukova, A.A., Bagrov, D.V., Evtushenko, E.G., Safronova, V.M., Golovina, D.A., Lyubchenko, L.N., Gudkova, M.V., Krasil'nikov, M.A. Exosome-Mediated Transfer of Cancer Cell Resistance to Antiestrogen Drugs. *Molecules* 2018, 23, 829.

БОТТРОМИЦИН А2 – ЗАБЫТЫЙ ИНГИБИТОР БАКТЕРИАЛЬНОЙ ТРАНСЛЯЦИИ С УНИКАЛЬНЫМ МЕХАНИЗМОМ ДЕЙСТВИЯ

Волынкина И.А.^{а,б}, Ягода Д.К.^а, Лукьянов Д.А.^{а,б}, Сергиев П.В.^{а,б}, Донцова О.А.^{а,б,в}

^аМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, 119991, Москва, Россия
электронная почта: Inna.Volynkina@skoltech.ru

^бЦентр молекулярной и клеточной биологии Сколковского института науки и технологий,
Большой бульвар, д. 30, стр. 1, 121205, Москва, Россия

^вИнститут биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, 117997, Москва, Россия

Распространение генов устойчивости к клинически значимым антибиотикам является важной проблемой здравоохранения, для решения которой требуются новые лекарственные препараты, активные в отношении антибиотикорезистентных штаммов бактерий. Однако механизм действия некоторых перспективных молекул до сих пор плохо изучен. Так, ботттромицин А2 представляет собой антибиотик пептидной природы, открытый еще в 1957 году¹, который проявляет высокую активность в отношении грамположительных штаммов, включая устойчивых к другим антибиотикам². Из ранних работ достоверно известно лишь, что он ингибирует биосинтез белка в клетках бактерий, и предположительно связывается с 50S субчастицей рибосомы³. Нам удалось впервые показать, что ботттромицин А2 обладает уникальной специфичностью к последовательности мРНК, вызывая остановку транслирующих рибосом исключительно на глициновых (Gly) кодонах. При этом ботттромицин А2 не влияет на процесс декодирования мРНК и не препятствует связыванию Gly-тРНК в А-сайте рибосомы. Дальнейшее исследование показало, что ингибиторные свойства ботттромицина А2 проявляются именно на этапе переноса растущего пептида на Gly-тРНК, при формировании пептидной связи. Таким образом, наши биохимические данные позволили уточнить механизм действия «забытого» антибиотика – ботттромицина А2.

Литература

1. Waisvisz, J. M., et al., *Journal of the American Chemical Society* 1957, 79, 4520-4521.
2. Nakamura, S., et al., *The Journal of Antibiotics* 1967, 20, 1-5.
3. Kinoshita, T., and Tanaka, N., *The Journal of Antibiotics* 1970, 23, 311-312.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, проект 075-15-2024-630.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙТРОФИЛОВ В ПРОЦЕССЕ ОБРАЗОВАНИЯ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК

Воробьева Н.В.^а, Мунтян М.С.^б

^аМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет,
Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, nvvorobjeva@mail.ru

^бНИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40

Нейтрофилы высвобождают деконденсированный ядерный хроматин или нейтрофильные внеклеточные ловушки (NETs, от Neutrophil Extracellular Traps) в ответ на большое количество разнообразных физиологических стимулов в очаге воспаления. Однако, кроме защиты хозяина от инфекции, NETs играют важную роль в патогенезе различных аутоиммунных, воспалительных и злокачественных заболеваний. В этой связи понимание молекулярных механизмов образования NETs, ведущее, как правило, к гибели нейтрофилов (NETosis), крайне важно для обеспечения контроля последствий aberrантного или избыточного выброса хроматина. Одним из основных методов изучения NETs на морфологическом уровне является конфокальная микроскопия и флуоресцентное окрашивание клеточных структур. Однако данный метод не дает возможности регистрировать особенности изменения морфологии клеток на наноуровне в процессе NETosis. В представленной работе впервые исследованы особенности топографии наноповерхности нейтрофилов и трансформации внутренних структур, динамика везикуляции мембран и ядерного хроматина в процессе активации клеток и NETosis с использованием атомно-силовой микроскопии. Полученные данные позволяют лучше понять механизм NETosis, что может способствовать дальнейшей разработке новых терапевтических средств для лечения заболеваний, при которых NETs являются важным этиологическим фактором.

Литература

1. Sergunova V., et al., *Cells*, 2023, 12(17), 2199.
2. Inozemtsev V., et al., *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, 24(15), 12355.

Работа выполнена в рамках госзадания МГУ имени М.В. Ломоносова, проекты 121042600047-9, 119031390114-5.

ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ ХРОМАТИНА ПРИ ДЕПЛЕЦИИ КОГЕЗИНА В КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

Вьюшков В.С.^а, Ломов Н.А.^а, Рубцов М.А.^{а,б}

^а *Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, кафедра молекулярной биологии, Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, электронная почта: vyushkov22@gmail.com*

^б *Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Центр индустриальных технологий и предпринимательства, Россия, 119048, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2*

Когезиновый комплекс (когезин) в клетках позвоночных обладает двумя активностями: образование петель хроматина за счет процесса петлевой экструзии, а также когезия сестринских хроматид. Осуществляя когезию хроматид и компактизуя хроматин в интерфазе, когезин должен ограничивать пространственную динамику (диффузионную подвижность) хроматина. С другой стороны, модель петлевой экструзии предполагает активное сближение локусов хроматина – то есть представляет собой пример динамики хроматина. Следовательно, когезин может как ограничивать динамику хроматина, так и, наоборот, усиливать ее.

Для ответа на вопрос, какой из этих эффектов доминирует, мы создали на основе линии клеток человека HCT116 клетки с системой индуцируемой ауксином деплеции RAD21-субъединицы когезинового комплекса. Для визуализации локусов хроматина в живых клетках применялась система CRISPR-Sirius. Визуализируемые геномные локусы примыкали к сайтам связывания когезина. Мы обнаружили, что при деплеции RAD21 увеличивалась подвижность визуализированных локусов хроматина, проявляющаяся в возрастании диффузионного коэффициента и среднего смещения визуализированного локуса в единицу времени. Такой эффект наблюдался как в клетках с реплицированными локусами, так и для клеток в G1-фазе клеточного цикла.

Результаты свидетельствуют о том, что когезин выступает в роли ограничителя подвижности хроматина в клетках человека. При этом для ограничения подвижности хроматина когезия сестринских хроматид не является необходимой. Ограничение динамики хроматина когезином может снижать вероятность рекомбинации и образования хромосомных перестроек при возникновении в клетках двунитевых разрывов ДНК.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 22-24-00251.

АНАЛИЗ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С БЕССИМПТОМНЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

Гаврилова Д.Д., Безсонов Е.Е.

*ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)
Россия, 119048, Москва, Трубецкая улица, 8, стр. 2
электронная почта: dzibrova@yandex.ru*

Атеросклероз – заболевание сердечно-сосудистой системы, характеризующееся хроническим воспалительным процессом и утолщением интимы артерий эластического типа. Раннее выявление и лечение атеросклероза является важной частью общей системы профилактики сердечно-сосудистых заболеваний. Данная работа посвящена изучению генов, ассоциированных с бессимптомным атеросклерозом. С использованием PubMed и Google Scholar найдены однонуклеотидные полиморфизмы генов, ассоциированные с бессимптомным атеросклерозом: *MRAS*¹, *SEL-E*², *IL-15*³, *MMP9*⁴, *CYBA*⁵. С

помощью анализа SNP на сайте NCBI были определены частоты полиморфизмов генов. Наибольшая частота полиморфизмов отмечена у *MRAS* (*rs3755751*) $A=0.31885$, *IL-15* (*rs10833*) $T=0.33249$, *CYBA* (*rs4673*) $A=0.342987$. По анализу генетической сети, составленной с использованием STRING-DB, было выяснено, что коэкспрессия обнаружена у генов *SEL-E*, *IL-15*, *MMP9*, *CYBA*. С помощью KEGG Pathways обнаруживаются следующие метаболические пути: *SEL-E*, *IL-15*, *MMP9* участвуют в сигнальном пути TNF; *SEL-E*, *CYBA* и *MMP9* связаны с напряжением сдвига потока и атеросклерозом; а гены *MMP9* и *CYBA* вовлечены в трансэндотелиальную миграцию лейкоцитов. Ген *MRAS* опосредовано связан коэкспрессией с *SEL-E* через *RAPGEF5*. *MRAS* вовлечён в процесс ответа на цитокины совместно с *SEL-E*, *IL-15*, *CYBA*, а также совместно с *IL-15*, *CYBA* участвует в клеточном ответе на цитокин-стимул. Таким образом, мы можем предположить, что гены, ассоциированные с ранним развитием атеросклероза связаны с провоспалительными процессами и метаболическими путями. Данные сведения могут помочь в своевременной диагностике и лечении атеросклероза.

Литература

1. Wu Z.Y., et al., *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020, 24(10), 5644-5649.
2. Vargas-Alarcon G., et al., *Immunobiology*. 2019, 224(1),10-14.
3. Angeles-Martínez J., et al., *Cytokin*. 2017, 99, 173-178.
4. Ahmad Z., et al., *Curr Probl Cardiol*. 2023, 48(6), 101659.
5. Nasti S., et al., *Dis Markers*. 2006, 22(3),167-73.

ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ АКТИВАЦИИ ВРОЖДЕННОГО ИММУННОГО ОТВЕТА С УЧАСТИЕМ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ RELISH, DEAF1, И SAYP У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Гасса М.^{а,б}, Качаев З.М.^а, Шидловский Ю.В.^{а,в}

^а Институт биологии гена РАН, Россия, 119334, Москва, ул. Вавилова, д. 34/5
электронная почта: info@genebiology.ru

^б Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет),
Россия, 141701, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок, д. 9.

^в Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, Россия. 119048, Москва, ул. Трубецкая, д. 8

Drosophila melanogaster успешно используется в качестве модельного организма для изучения различных биологических процессов, в том числе иммунного ответа. Врожденный иммунный ответ дрозофилы — это сложная система, эволюционно консервативная среди эукариот. Активация гуморального иммунитета индуцирует усиление экспрессии генов, кодирующих антимикробные пептиды (АМП). Экспрессия этих генов контролируется эволюционно консервативными сигнальными путями Toll и IMD¹. В данной работе детально исследованы молекулярные механизмы активации врожденного иммунного ответа у *D. melanogaster* с участием транскрипционных факторов Relish, DEAF1 и SAYP. С помощью методов иммунопреципитации хроматина и РНК-интерференции нами впервые продемонстрирована существенная роль Relish в механизме кросс-активации сигнального пути IMD в клетках S2 *D. melanogaster* после стимуляции иммунного ответа с помощью *Micrococcus luteus*. Мы также показали, что транскрипционные факторы DEAF1 и SAYP участвуют в регуляции транскрипции генов АМП, активируемых сигнальными путями IMD и Toll. Более того, обнаружено, что DEAF1 и SAYP кооперируют на регуляторных участках некоторых генов АМП. Эти данные подтверждены прямым взаимодействием белков DEAF1 и SAYP, выявленным методом ко-иммунопреципитации. Полученные результаты позволяют выявить новые молекулярные механизмы активации сигнальных путей врожденного иммунитета.

Литература

1. Yu S, Luo F, Xu Y et al. *Drosophila* Innate Immunity Involves Multiple Signaling Pathways and Coordinated Communication Between Different Tissues. *Front Immunol* 2022; 13: 905370.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-14-00348.

СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ НАHS И РЕСВЕРАТРОЛА: ВЛИЯНИЕ НА МИКРОВАЗКОСТЬ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН ПРИ ДЕФИЦИТЕ ВОДЫ

Герасимов Н.Ю., Неврова О.В., Жигачева И.В., Генерозова И.П., Голощапов А.Н.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля
Российской академии наук, 119334 ул. Косыгина, 4, г. Москва, Россия
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая, 35, Москва, 127276, Россия
E-mail: n.yu.gerasimov@gmail.com

Ранее нами было показано, что воздействие NaHS на мембраны митохондрий эпикотилей проростков гороха приводило к увеличению микрвязкости мембран митохондрий и уменьшению их кристалличности. Такое состояние мембран может быть связано с одновременным накоплением осмолитов и увеличением активности антиоксидантных ферментов при воздействии экзогенного сероводорода. Например, накопление трегалозы, которая способна встраиваться в мембраны клеток, может приводить к изменению состава мембран, в результате чего изменяются состав и микрвязкость липидного бислоя. Осмолиты также способны изменять вязкостные свойства воды, что может влиять на микрвязкость мембран митохондрий. Увеличение активности антиоксидантных ферментов при воздействии NaHS могло вызывать уменьшение количества активных форм кислорода (АФК), накопление ненасыщенных жирных кислот в липидном бислое, приводя к уменьшению кристалличности мембран митохондрий. Кроме того, сдвиг термоиндуцированных структурных переходов в область более низких температур мог быть связан с разобщением дыхательной цепи из-за стресса и повышением локальной температуры за счет выделения части энергии в виде тепла. С целью проверки данного предполагаемого механизма действия экзогенного NaHS на структурные характеристики мембран было исследовано влияние антиоксиданта ресвератрола на микрвязкость липидного бислоя. Добавление ресвератрола не оказало существенного влияния на текучесть мембран опытных групп митохондрий, вероятнее всего, из-за увеличения активности антиоксидантных ферментов под воздействием сероводорода, приведшего к сильному уменьшению количества АФК. Таким образом, вышеизложенное доказывает наше предположение о механизме действия сероводорода путем активации антиоксидантных ферментов и одновременным накоплением осмолитов на структурные характеристики мембран митохондрий. Дефицит воды уменьшал эффективность окислительного фосфорилирования на 30%. При этом обработка семян NaHS не приводила к восстановлению биоэнергетических характеристик митохондрий до контрольных значений. Таким образом, повышение локальной температуры в результате выделения части тепла в процессах окислительного фосфорилирования было достаточно вероятным.

ОБРАЗОВАНИЕ ВНУТРИНУКЛЕОСОМНЫХ ПЕТЕЛЬ ДНК КАК ФАКТОР ПАУЗИРОВАНИЯ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ 2

Герасимова Н.С.^а, Студитский В.М.^{а,б}

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: shordome@gmail.com

^б Cancer Epigenetics Team, Fox Chase Cancer Center, Cottman Avenue 333, Philadelphia, PA 19111, USA,
электронная почта: vasily.studitsky@fccc.edu

Нуклеосомы представляют собой барьер для транскрибирующей РНК-полимеразы 2 (РНКП 2), вызывая замедление фермента. *In vivo* нуклеосомный барьер для РНКП 2 служит мишенью для регуляторов генной экспрессии, и механизмы его формирования и преодоления активно изучаются.

Ранее нами было обнаружено, что транскрипция нуклеосом РНКП 2 сопровождается формированием внутринуклеосомных петель ДНК – структур, в которых ДНК позади фермента взаимодействует с открывшейся ДНК-связывающей поверхностью октамера гистонов, а РНКП оказывается временно замкнутой в образованной петле^{1,2}. Структура такого комплекса была изучена с использованием биохимических подходов и метода электронной микроскопии³. К настоящему моменту стало известно, что подобные структурные интермедиаты могут формироваться при продвижении фермента вдоль всей промотор-проксимальной области нуклеосомы¹⁻⁶.

На эффективность образования внутринуклеосомных петель ДНК могут оказывать влияние различные факторы. Так, N-концевые домены гистонов способствуют их формированию⁶, а некоторые белковые факторы, напротив, препятствуют взаимодействию ДНК с октамером гистонов позади РНКП⁵. Остановку РНКП 2 во внутринуклеосомной петле заметно усиливает присутствие в ДНК однонитевых разрывов, что может способствовать узнаванию этих повреждений.

Так, внутринуклеосомные петли ДНК, образующиеся в процессе транскрипции, могут служить мишенью действия факторов регуляции транскрипции и сенсорами разрывов ДНК, скрытых в структуре хроматина. Изучение механизмов их образования и стабилизации значимо для нашего понимания процессов регуляции транскрипции и репарации ДНК.

Литература

1. Pestov N.A., et al., *Science Advances* 2015, 1, e1500021.
2. Gerasimova N.S., et al., *Transcription* 2016, 7(3), 91-5.
3. Gerasimova N.S., et al., *Cells* 2022, 11(17), 2678.
4. Filipovski M., et al., *Science* 2022, 376(6599), 1313-1316.
5. Akatsu M., et al., *J Biol Chem.* 2023, 299(12), 105477.
6. Gerasimova N.S., et al., *Int J Mol Sci.* 2023, 24(3), 2295.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-74-10012.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛНОГЕНОМНОГО СКРИНИНГА НА ОСНОВЕ СИСТЕМЫ ГЕННОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ CRISPR/CAS9 ДЛЯ ПОИСКА РЕГУЛЯТОРОВ РИБОФАГИИ

Голубева Ю.А.^{а,б}, Михайлов А.С.^в, Сергиев П.В.^{а,б}

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: Julia.Golubeva@skoltech.ru

^б Центр молекулярной и клеточной биологии Сколковского института науки и технологий, Большой бульвар 30, Сколково, Московская область, 143025, Россия,

^в ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Россия, 119048, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

Рибосома – важная для клетки органелла, осуществляющая биосинтез белка. Инактивация рибосомы в процессе трансляции может происходить из-за ряда различных факторов, включающих действие антибиотиков, химические модификации, повреждение риботоксинами. Одним из механизмов клеточного ответа на накопление нефункциональных рибосом является активация процесса их деградации путем специфической формы аутофагии, называемой рибофагией. В литературе описан только один специфичный рецептор рибофагии – белок NUFIP1¹, напрямую взаимодействующий с рибосомой в условиях голодания и направляющий их на деградацию в аутофагосому через связывание с белком LC3B.

Поскольку полный механизм рибофагии не до конца понятен, то актуальной задачей является поиск генов, вовлеченных в этот процесс. Для этого мы провели полногеномный скрининг на основе флуоресцентного репортера рибофагии, представляющего собой клеточную линию с рибосомами, мечеными по RPL29 двумя флуоресцентными белками – mCherry и GFP. При активации рибофагии отношение флуоресценции mCherry к GFP растет за счет тушения флуоресценции GFP в кислом pH аутофаголизосом². Используя лентивирусную библиотеку Brunello³, нацеленную на редактирование порядка 19 тыс. генов, мы выявили наиболее перспективные для дальнейшего изучения мишени, среди которых есть убиквитинлигаза, специфически связывающаяся с рибосомой в условиях индукции рибофагии и приводящая к ее убиквитинированию.

Литература

1. Wyant G., et al., *Science* 2018, 360, 751-758.
2. Kim S., et al., *BMB Rep.* 2020, 53, 241-247.
3. Sanson K., et al., *Nat Commun.* 2018, 9, 5416.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ, проект 24-14-00048.

АТФ КАК ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ СТИМУЛ АСТРОЦИТОВ

Горбатенко В.О.^а, Дрождев А.И.^а, Горяинов С.В.^б, Чистяков Д.В.^{б,в}, Сергеева М.Г.^в

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, с. 73, электронная почта: vladislav.gorbatenko@yandex.ru

^б Российский университет дружбы народов, Россия, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6,

^в НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, с. 40.

АТФ не только является основным источником энергии в организме млекопитающих, но и обеспечивает передачу сигналов между клетками посредством P2-пуринорецепторов. Особую роль пуриnergический сигнальный каскад играет в астроцитах: при многих патологических процессах в ЦНС наблюдается быстрое высвобождение большого количества АТФ из этих клеток. Однако молекулярные механизмы действия АТФ как провоспалительного стимула остаются мало изученными, поэтому задачей работы было охарактеризовать влияние внеклеточного АТФ на воспалительный ответ астроцитов. Ранее мы показали противовоспалительное действие противодиабетического препарата метформина (способного снижать уровень АТФ в клетке) на воспаление в астроцитах, адаптированных к условиям гипергликемии¹⁻². Поэтому оценили влияние гипергликемии и метформина на ответы астроцитов на АТФ. Анализировали профили оксипиринов, производных полиненасыщенных жирных кислот (метод UPLC-MS/MS), экспрессию цитокинов, маркеров воспаления (метод qPCR), активности цитозольной фосфолипазы A2, p38, ERK MAP-киназ, NF-κB (иммуноблоттинг). Показано, что стимуляция клеток АТФ: 1) активирует циклооксигеназный путь синтеза оксипиринов; 2) не влияет на экспрессию провоспалительных цитокинов; 3) активирует MAP-киназы p38 и ERK1/2. Адаптация клеток к условиям гипергликемии снижает эффективность АТФ как стимула. Предобработка клеток метформином влияет на АТФ-стимулированные ответы клеток в нормальной глюкозе, смещая их в сторону провоспалительных.

Литература

1. Gorbatenko, et al., *Biochemistry* 2022, 87(7), 577–589.
2. Gorbatenko, et al., *Cell Biochem Biophys*. 2024, 82(3), 2701-2715.

Работа выполнена в рамках проекта №214853-2-000 системы грантовой поддержки научных проектов РУДН.

ДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ ПЫЛИ НА ВОСПАЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВАЦИЮ КЛЕТОК БРОНХИАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ЧЕЛОВЕКА

Дашкевич А.А.^{а,б}, Зиновкина Л.А.^{а,б}, Черняк Б.В.^б

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, 119234 Москва, Россия, электронная почта: annadash221@gmail.com

^б НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119992 Москва, Россия

Загрязнение атмосферного воздуха наночастицами (НЧ) пыли является важным фактором, угрожающим здоровью человека. Механизмы взаимодействия НЧ пыли с клетками эпителия дыхательных путей человека изучены недостаточно. Целью настоящей работы явилось изучение действия НЧ пыли на экспрессию цитокинов воспаления в клетках эпителия бронхов BEAS-2B. В работе использовали НЧ, полученные из пыли г.Москвы в пределах третьего транспортного кольца. Для определения вклада минеральной составляющей НЧ, их подвергали термическому воздействию (30 мин 300°C), удаляющему органические компоненты. Показано, что как необработанные НЧ, так и минеральные компоненты НЧ вызывают значительное увеличение экспрессии провоспалительного цитокина ИЛ-8 и менее выраженное увеличение экспрессии других цитокинов воспаления (ИЛ-6, ФНО и ИЛ-1β), а также молекулы адгезии ICAM1, которая обеспечивает проникновение нейтрофилов в очаг воспаления. Таким образом, обнаруженное провоспалительное действие минеральных компонентов НЧ пыли может вносить вклад в патогенез воспалительных заболеваний дыхательных путей, таких как астма и хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-14-00084.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ БЕЛКА TREACLE В СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ЯДРЫШКА КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Дериглазов Д.А.^а, Петрова Н.В.^б, Лужин А.В.^а, Разин С.В.^б, Величко А.К.^{а,в}

^а Отдел клеточной геномики, Лаборатория стабильности генома, Институт биологии гена РАН, Москва, Россия
Электронная почта: drglz.dm@gmail.com

^б Биологический факультет Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия
^в Институт трансляционной медицины и биотехнологии Первого МГМУ им. Сеченова, Москва, Россия

Считается, что внутриклеточное разделение фаз на границе жидкость-жидкость (от англ. liquid-liquid phase separation – LLPS) может приводить к образованию конденсированных жидкоподобных капель белка и РНК, которые служат функциональными «хабами» для многих клеточных процессов. Ядрышко представляет собой многокомпонентный фазовый конденсат¹, образующийся на платформе рибосомной ДНК (рДНК). Рибосомная РНК (рРНК) и сотни различных белков ядрышка разделены на три несмешивающиеся жидкие фазы: фибриллярный центр (FC), плотный фибриллярный компонент (DFC) и гранулярный компонент (GC), где каждый из этих компартментов обеспечивает особую среду, необходимую для осуществления основных функций ядрышка: транскрипции рРНК, её процессинг и модификация, а также сборка субъединиц рибосом.

В настоящей работе мы представляем доказательства того, что ядрышковый белок Treacle служит молекулярным каркасом для FC в ядрышках клеток человека и способен формировать биомолекулярные конденсаты². Детально охарактеризованы структурные детерминанты, регулирующие LLPS свойства белка Treacle, благодаря которым обеспечивается рекрутинг и концентрирование факторов транскрипции у рДНК, а также сепарация компонентов FC и DFC, что обеспечивает пространственное разделение синтеза рРНК и её последующий процессинг. Нарушение конденсационных свойств Treacle приводит к перемешиванию компонентов FC и DFC, что снижает эффективность синтеза и процессинга рРНК, что эквивалентно деплеции эндогенного белка Treacle. Более того, мы продемонстрировали, что способность к фазовой сепарации Treacle критически необходима для его взаимодействия с репарационным белком TOPBP1, что необходимо для активации ответа на повреждение рДНК.

Литература

1. Lafontaine, D.L.J., et al. *Nat Rev Mol Cell Biol* 22, 165–182 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0272-6>
2. Velichko A. K., *eLife* 13:RP96722 (2024). <https://doi.org/10.7554/eLife.96722.1>

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 21-74-10018

РЕОРГАНИЗАЦИЯ АКТИНОВОГО КОРТЕКСА ПРИ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОМ ПЕРЕХОДЕ

Еговцев Н.А.^а, Дугина В.Б.^{а,б}, Копнин П.Б.^в

^а Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12,
электронная почта: egovtsevn@gmail.com

^б НИИ Физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40,

^в НИИ канцерогенеза НМИЦ онкологии имени Н. Н. Блохина РАМН, Россия, 115522, Москва, Каширское шоссе, д. 24, стр. 15.

Изучение механизмов, способствующих прогрессии и метастазированию опухолей, является одним из важных направлений в современной экспериментальной онкологии. Интерес в этой области представляет нарушение баланса экспрессии бета (*ACTB*) и гамма (*ACTG1*) цитоплазматических изоформ актина. Несмотря на схожесть аминокислотного состава, различающегося только по четырем аминокислотам на N-конце, эти изоформы сегрегированы во внутриклеточном пространстве нормальных клеток и участвуют в формировании различных цитоскелетных структур¹. В карциномах, по сравнению с нормальными клетками, наблюдается повышение экспрессии *ACTG1* и снижение экспрессии *ACTB*. При этом уменьшается количество β-актин-содержащих стресс-фибрилл, изменяется морфология γ-актин-содержащего кортекса, клетки приобретают мезенхимальный фенотип и становятся более подвижными^{2,3}. Эпителиально-мезенхимальная пластичность играет важную роль в прогрес-

сии, инвазии и метастазировании большинства карцином. Наше исследование посвящено изменению морфологии и белкового состава актинового кортекса при эпителиально-мезенхимальном переходе, который наблюдается при модуляции экспрессии цитоплазматических изоформ актина с помощью РНК-интерференции. Обнаружены некоторые функциональные и фенотипические маркеры данного процесса при опухолевой прогрессии.

Литература

1. Dugina V., et al., *Journal of cell science* 2009, 122, 2980–2988.
2. Dugina V., et al., *Oncotarget* 2015, 6, 14556–14571.
3. Dugina V., et al., *Frontiers in Pharmacology* 2022, 13, 895703.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-15-00433.

СЕРИНОВЫЕ ПЕПТИДАЗЫ СЕМЕЙСТВА S1A У ЖУКА *TENEBRIO MOLITOR*

Жиганов Н.И.^{а,б}, Терещенкова В.Ф.^в, Элпидина Е.Н.^а

^аМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: nikitooos@rambler.ru

^бМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1

^вМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1

Сериновые пептидазы (SP) подсемейства химотрипсина S1A представляют собой крупнейшую группу пептидаз, обнаруженных у всех животных. У насекомых они участвуют как в пищеварительном протеолизе, так и в иммунной защите, адгезии, регуляции развития и метаболизма. Мы идентифицировали SP в транскриптомах и геномах жука *Tenebrio molitor*, провели их аннотацию, филогенетический анализ, исследовали профили экспрессии генов на различных стадиях онтогенеза. Было идентифицировано 269 SP, в том числе 137 с консервативными остатками каталитической триады, и 125 гомологов сериновых пептидаз (SPH), имеющих замены в активном центре. Кроме того, 7 выявленных последовательностей содержали 2 или 3 пептидазных домена и были аннотированы как полипептидазы. Самая большая группа из 84 SP и 102 SPH не имела регуляторных доменов в пропептиде, и гены большинства из них экспрессировались только на питающихся стадиях – личинках и взрослых особях, предположительно, играя важную роль в пищеварении. Остальные 53 SP и 23 SPH содержали различные регуляторные домены, их гены демонстрировали повышенную экспрессию на стадиях яиц и/или куколок, либо конститутивно экспрессировались на всех или большинстве стадий развития, что предполагает их участие в важнейших физиологических процессах. Большинство полипептидаз в основном экспрессировались на стадиях куколки и взрослых особей. Полученные данные расширяют наши знания о SP/SPH и дают основу для дальнейших исследований функций белков из подсемейства S1A у *T. molitor*.

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В.Ломоносова.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ABCB1, GSTP1 И GSTT1 В ПЛАЦЕНТЕ БЕРЕМЕННЫХ С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Заварыкина Т.М.^{а,б}, Козырко Е.В.^б, Байгазиева Д.А.^б, Лужина Е.А.^б,
Дудкина Е.С.^а, Пронина И.В.^а, Хохлова С.В.^б, Сухих Г.Т.^б

^аФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Россия, 119334, Москва, ул. Косыгина, д. 4, электронная почта: tralievskaya@yandex.ru

^бФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И.Кулакова Минздрава России, Россия, 117997, Москва, ул. Опарина, д. 4

Лечение онкологических заболеваний на фоне беременности – один из наиболее слабо освещенных вопросов в онкологии, терапевтическая тактика для таких пациенток остается дискуссионной. Наиболее часто встречающимися при этом солидными опухолями являются рак молочной железы (РМЖ), рак шейки матки (РМШ), рак яичника (РЯ)¹. На первом этапе лечения у этих больных стандартно применяется цитостатическая химиотерапия.

Целью работы было изучение экспрессии генов ABCB1, GSTP1 и GSTT1, отвечающих за транспорт и метаболизм токсинов и лекарственных препаратов, в плаценте 31 беременной женщины с РМЖ, РШМ и РЯ, развившихся на фоне беременности, после химиотерапии по сравнению со здоровыми пациентками.

Методом ПЦР выявлено изменение экспрессии генов глутатионтрансфераз GSTT1 и GSTP1 у беременных с онкологическими заболеваниями. У больных РШМ помимо изменения экспрессии изученных генов глутатионтрансфераз обнаружено изменение экспрессии гена ABCB1, кодирующего основной транспортный белок плаценты. В подгруппе РМЖ выявлено изменение экспрессии только для гена GSTT1. Для немногочисленной подгруппы больных РЯ изменения экспрессии всех генов были сопоставимы с медианами общей группы больных.

Исследование молекулярно-генетических особенностей беременных пациенток с онкологическими заболеваниями важно с клинической точки зрения, так как может выявить новые мишени терапии, прогностические маркеры акушерских осложнений лечения у беременных пациенток, возможности для оценки эффективности химиотерапии на фоне беременности.

Литература

1. Benoit L., et al., *Cancers*. 2021, 13, 1238–1257.

БЕЛОК-ПЕРЕНОСЧИК ХОЛЕСТЕРИНА STARD1 СТИМУЛИРУЕТ РАБОТУ P450SCC-СИСТЕМЫ В НЕСТЕРОИДОГЕННЫХ КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ И КЛЕТКАХ БАКТЕРИЙ

Замалутдинова С.В.^а, Исаева Л.В.^б, Вьюшков В.С.^а, Голышев С.А.^б, Рубцов М.А.^а, Новикова Л.А.^б

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1/12

электронная почта: zamalutdinova.sofya@mail.ru,

^б Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1/40

В стероидогенных клетках млекопитающих тропные гормоны, действуя через интермедиат цАМФ, регулируют синтез мРНК белков P450scс-системы (цитохром P450scс (CYP11A1), AdR и Adx), обеспечивающих синтез прегненолона – первого метаболита в каскаде стероидогенеза, и белка STARD1 (стероидогенный регуляторный белок острой фазы), переносящего холестерин к месту локализации P450scс¹. В работе продемонстрирована возможность функционирования STARD1 человека в эукариотических нестероидогенных клетках HEK293T, а также в клетках бактерий *E. coli* BL21(DE3). С использованием флуоресцентной микроскопии и Вестерн-блоттинга показано, что в клетках HEK293T белок STARD1 локализуется в митохондриях, как и в стероидогенных клетках. С использованием электронной микроскопии показано, что в результате синтеза P450scс в митохондриях клеток HEK293T формируются тубуло-везикулярные кристы, характерные для стероидогенных клеток².

В клетках HEK293T, как и в *E. coli*, включающих реконструированную P450scс-систему быка, экспрессия гена *STARD1* увеличивает трансформацию холестерина в прегненолон цитохромом P450scс (на ~180% в клетках бактерий и на ~13% в клетках эукариот по сравнению с контрольными клетками, включающими только P450scс-систему), несмотря на отсутствие гормональной регуляции. STARD1 является важным регуляторным белком, вовлечённым в развитие ряда серьёзных заболеваний. Полученные результаты указывают на то, что механизм функционирования STARD1 может быть реализован в разных типах клеток, и, следовательно, на возможность проведения исследований его характеристик в модельных системах на основе нестероидогенных клеток.

Литература

1. LaVoie H. A., King S.R., *Experimental biology and medicine*. 2009, 234, 880-907.
2. Rosal K. G., et al., *Journal of Biomedical Science* 2022, 29, 61.

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова.

ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ ФАКТОРОВ РИБОСОМНОГО РЕЦИКЛИНГА НА РЕИНИЦИАЦИЮ ТРАНСЛЯЦИИ В ДРОЖЖАХ

Замятнина К.А.^{а,б}, Ураков В.Н.^в, Волынкина И.А.^а,
Столбоушкина Е.А.^г, Кац Л.М.^а, Каменский П.А.^б, Дмитриев С.Е.^а

^а НИИ физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского и
^б Биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, 119234, Москва,
электронная почта: zamksju@rambler.ru;
^в ФИЦ биотехнологии РАН, Россия, 119071, Москва;
^г Институт белка РАН, Россия, 142290, Пущино.

Последним этапом трансляционного цикла является рибосомный рециклинг, который включает отсоединение большой рибосомной субчастицы, диссоциацию тРНК и уход малой субчастицы из комплекса с мРНК. У эукариот, мРНК которых в основном моноцистронны, 40S субчастица обычно диссоциирует после прочтения длинных рамок считывания. Однако после коротких рамок, которые встречаются в 5'-нетранслируемых областях мРНК (uORF), она может оставаться на мРНК и реинициировать трансляцию. Эти процессы регулируют белок eIF2D (у дрожжей именуемый Tma64p) и гетеродимер MCTS1-DENR (Tma20p-Tma22p)^{1,2}. Они имеют в своём составе консервативный SUI1-домен, который связывается с Р-сайтом рибосомы^{3,4}. Однако механизм работы этих белков и распределение их ролей остаётся малопонятным.

В данной работе с помощью репортерных конструкций мы измеряли частоту реинициации трансляции после короткой uORF или после длинной рамки, кодирующей полноценный белок, в клетках пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Мы сравнивали штаммы дикого типа, нокауты по генам TMA20, TMA22 и TMA64 (индивидуальные, двойные и тройные) и нокаутные клетки с введённым геном, кодирующим Tma22p с делециями или аминокислотными заменами в SUI1-домене. Наши результаты показывают больший вклад гетеродимера Tma20p-Tma22p, чем белка Tma64p, в регуляцию реинициации после uORF, а также важность консервативной положительно заряженной β-петли в SUI1-домене Tma22p, участвующей в распознавании кодон-антикодонного дуплекса.

Литература

1. Skabkin et al., *Genes Dev* 2010, 24(16), 1787-1801.
2. Young et al., *Mol Cell* 2018, 71(5), 761-774 e5.
3. Lomakin et al., *Cell Rep* 2017, 20, 521-528.
4. Weisser et al., *Mol Cell* 2017, 67(3), 447-456.e7.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-14-00218.

IN VIVO И IN VITRO ИССЛЕДОВАНИЕ ДНК-ПРОТЕКТОРНОГО БЕЛКА DSUP ТИХОХОДКИ RAMAZZOTTIUS VARIEORNATUS

Зарубин М.П.^а, Кравченко Е.В.^а, Муругова Т.Н.^а, Иванков А.И.^а, Рижиков Ю.Л.^{а,б}, Уверский В.Н.^{б,в,г}

^а Объединенный институт ядерных исследований, 141980, Дубна, ул. Жолио-Кюри 20, Россия
mzarubin@jinr.ru

^б Московский физико-технический институт, 141701, Долгопрудный, Институтский пер. 9, Россия

^в Институт биологического приборостроения, 142290, Пущино, ул. Институтская 7, Россия

^г Университет Южной Флориды, Тампа, США

Представители типа тихоходок (Tardigrada) — одни из самых устойчивых животных к различным физико-химическим стрессам. Ключевым фактором экстремальной устойчивости тихоходок является наличие в их организме групп специфических неупорядоченных белков (TDPs)¹. Среди этих белков выделяется Dsup (Damage suppressor), открытый в тихоходке *Ramazzottius varieornatus* и являющийся эффективным ДНК-протектором². Возможность существенно повышать устойчивость других организмов, экспрессирующих ген *Dsup*, делает это белок ценным с фундаментальной и прикладной точки зрения^{2,3,4}. Наша группа исследует молекулярный механизм действия белка тихоходок Dsup и развивает его приложения. В ходе исследований удалось повысить устойчивость к окислительному стрессу и ионизирующему излучению сложного модельного организма (*Drosophila melanogaster*), показать для него эффекты белка Dsup на транскриптомном уровне и установить, что Dsup — неспец-

ифичный репрессор транскрипции³. Было проведено структурно-биологическое исследование *in vitro* с использованием методов, подходящих для исследования таких гибких молекул – малоуглового рентгеновского рассеяния (SAXS), спектроскопии кругового дихроизма (CD), биоинформатики⁵. Dsup был охарактеризован и было показано, что это сильно неупорядоченный белок, формирующий нечеткий (“fuzzy”) комплекс с ДНК, то есть сохраняющий высокую конформационную подвижность в составе комплекса Dsup-ДНК⁵. Далее нами исследуются влияние белка Dsup на организацию хроматина и молекулярный механизм защиты ДНК. Для этого *in vivo* использован метод полногеномного оценивания степени открытости хроматина (ATAC-seq), а комплекс Dsup-DNA характеризуется *in vitro* (cryo-EM и SAXS).

Литература

1. Hesgrove C., et al. *Cell Communication and Signaling*. 2020. 18.
2. Hashimoto T. et al., *Nature Communications*. 2016, 7 (1), 12808.
3. Zarubin M. et al., *iScience*. 2023, 26 (7).
4. Zarubin M. et al., *Biotechnology Progress*. 2024. 40 (5).
5. Zarubin M. et al., *Scientific Reports*. 2024, 14 (1), 22910.

ТРАНСКРИПТОМ *M. ABSCESSUS* В УСЛОВИЯХ МАКРОФАГОПОДОБНОГО СТРЕССОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Захарьева Е.В.^а, Мартини Б.А.^а, Григоров А.С.^б, Салина Е.Г.^а

^а Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Россия, 119071, Москва, Ленинский проспект, 33, электронная почта: zaharjewae@yandex.ru

^б Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Россия, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10.

В последние десятилетия наблюдается рост случаев инфицирования людей нетуберкулезной микобактерией *M. abscessus*. В группе риска находятся пациенты с муковисцидозом и повышенной восприимчивостью к легочным инфекциям. Основной проблемой в лечении инфекций, вызванных *M. abscessus*, является естественная устойчивость этого патогена к действию большинства лекарственных средств. Кроме того, в настоящее время понимание молекулярных механизмов, способствующих успешному выживанию *M. abscessus* в агрессивных условиях внутриклеточной среды иммунных клеток, находится на начальной стадии¹⁻². Методом RNA-seq был проведен транскриптомный анализ клеток *M. abscessus* в условиях, моделирующих *in vitro* те стрессовые воздействия, с которыми бактериальная клетка сталкивается во внутриклеточной среде макрофагов: действие активных форм кислорода и азота, снижение значений pH среды, ограничение доступности питательных веществ, переход в метаболически инертное состояние и др. Мы обнаружили ряд генов с существенно повышенным уровнем экспрессии, вероятно, кодирующих белки, которые участвуют в поддержании жизнеспособности патогена при инфекции. Затем мы сконструировали оригинальные штаммы *M. abscessus* с гиперэкспрессией этих генов для изучения их жизнеспособности в условиях макрофагоподобных стрессов *in vitro* и оценки влияния гиперэкспрессии на вирулентность микобактерий в моделях инфекции *ex vivo*. Обнаружение оригинальных факторов вирулентности *M. abscessus* и понимание стратегии адаптации к неблагоприятным внешним воздействиям необходимо для разработки новых подходов к терапии инфекций, вызываемых этим патогеном, и контролю за их распространением.

Литература

1. Johansen M. D., et al., Non-tuberculous mycobacteria and the rise of *Mycobacterium abscessus*, *Nature Reviews Microbiology* 2020, 18, 392-407.
2. Nessar R., et al., *Mycobacterium abscessus*: a new antibiotic nightmare, *Journal of antimicrobial chemotherapy* 2012, 67, 810-818.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-15-00173.

АРТЕФАКТ В МАТЕРИАЛЕ, ПОЛУЧЕННОМ С ПОМОЩЬЮ ONT

Зими́на А.А.

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)
Россия, 119048, Москва, Трубецкая улица, 8, стр. 2
электронная почта: zimina2004@yandex.ru

В современной генетике актуальна задача получения длинных качественных прочтений. Для этого мы использовали технологию ONT, позволяющую получить большой массив данных. Недостатком является сравнительно низкое качество прочтений, поэтому изучение и создание библиотек ошибок для исключения ложных результатов исследований актуально. Мы получили образцы крови от четырёх человек разных регионов и этнического происхождения, заражённых *Plasmodium falciparum*. Обработали по стандартному протоколу ONT и секвенировали на Oxford Nanopore MinION. Качество прочтений (Q-score) составило 15, что приемлемо для данного прибора. После стандартной очистки и предподготовки данные были обработаны программой Blast (blastn). Помимо ожидаемых последовательностей паразита, человеческого генома и незначительного количества посторонних распознанных последовательностей, во всех четырёх образцах была обнаружена *Naegleria fowleri* с 100% идентичностью к базам данных Blast. Ввиду этого, мы предполагаем, что обнаружение *Naegleria fowleri* является артефактом данных. Для дополнительной проверки нашей теории мы решили в данном участке определить наличие белоккодирующих участков и после подготовки провести моделирование закодированного белка при помощи AlphaFold 3. На выходе мы получили модель с малоизвестными участками. Скачали JSON-файлы и открыли в PyMOL. После рассмотрения параметров выяснилось, что большинство структур неустойчивы, что подтверждает: данный распознанный участок является артефактом. Знание этой информации может быть полезно при обработке и идентификации данных в будущем, исключая ошибку интерпретации при работе с материалом, полученным по технологии ONT.

Литература

1. Rigsby R.E., Parker A.B. et al., *Using the PyMOL application to reinforce visual understanding of protein structure* // Biochem Molecular Bio Educ. 2016, Vol. 44, № 5. P. 433–437.
2. Pugh J.J., Levy R.A. et al., *Naegleria fowleri : Diagnosis, Pathophysiology of Brain Inflammation, and Antimicrobial Treatments* // ACS Chem. Neurosci. 2016, Vol. 7, № 9. P. 1178–1179.

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ КОМПЛЕКСА S-БЕЛКА КОРОНАВИРУСА SARS-COV-2 С НАНОАНТИТЕЛОМ

Иванников А.Д.^{а,б}, Кочаровская М.В.^{а,б}, Борщевский В.И.^а,
Дормешкин Д.О.^в, Шапиро М.А.^в, Шенкарев З.О.^{а,б}, Люкманова Е.Н.^{б,г,д}

^а Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет),
141701, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок, д.9.
электронная почта: ivannikov.ad@phystech.su

^б Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997, Российская Федерация, Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10.

^в Институт биоорганической химии НАН Беларуси, ул. Академика В.Ф. Купревича, д.5, корп.2, 220084, г. Минск, Республика Беларусь

^г Московский государственный университет им. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1

^д Биологический факультет, Шэньжэньский университет МГУ-ППИ,
518172, Провинция Гуандун, г. Шэньжэнь, район Лунган, Даюньсиньчэн, улица Гоцзидасюэюань, дом 1

SARS-CoV-2 — возбудитель острого респираторного заболевания COVID-19, вызвавший пандемию всемирного масштаба и унёсший огромное число жизней. Одним из подходов к терапии SARS-CoV-2 является использование нейтрализующих антител, нацеленных на рецептор-связывающий домен (RBD) S-белка коронавируса¹. Помимо классических антител, перспективными являются наноантитела². Они представляют собой переменный домен антител с только тяжёлой цепью, встречающихся у мозолоногих и акул и характеризуются малыми размерами (~14 кДа), высокой аффинностью, отличной стабильностью и растворимостью. В настоящей работе методом криоэлектронной микроскопии³ была получена структура S-белка дельта варианта коронавируса SARS-CoV-2 в комплексе с синтетическим наноантителом разрешением 2.94 Å. Установлено, что исследуемое наноантитело способно связываться в двух различных не перекрывающихся сайтах на RBD: одном в районе RBM (рецептор-связывающего мотива) и другом в боковой части домена. При этом в районе RBM наноан-

титело связывается в виде димера. Произведён также анализ гетерогенности комплекса и показана высокая подвижность рецептор-связывающих доменов. Построены атомные модели и охарактеризованы интерфейсы взаимодействия. Полученная структурная информация полезна для разработки новых синтетических наноантител.

Литература

1. Focosi D., et al., *Lancet Infect Dis.* 2022, 22(11), e311-e326.
2. Pedreañez A., et al., *BioTechnologia (Pozn)*. 2021, 102(3), 321-336.
3. Bai X.C., et al., *Trends Biochem Sci.* 2015, 40(1), 49-57.

АНАЛИЗ СТРУКТУРА-АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРРОЛО[1,2- α]ХИНОКСАЛИНА: НОВЫЙ ИНГИБИТОР ПОЛИМЕРИЗАЦИИ ТУБУЛИНА

Ипатова Д.А.^а, Каретников Г.Л.^а, Гук Д.А.^а, Скворцов Д.А.^а

^аМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: ipatova.daria@yandex.ru

Онкологические заболевания остаются одной из ведущих причин смертности, несмотря на прогресс в лекарственной терапии¹. Хиноксалин и его структурные аналоги описаны в литературе как потенциальные химиотерапевтические средства против различных опухолей². Нашей командой были найдены производные пирроло[1,2- α]хиноксалина, которые проявляют токсичность в раннем наномолярном диапазоне³.

Для оптимизации молекулярного каркаса и выявления зависимостей структура-активность нами была синтезирована серия производных пирроло[1,2- α]хиноксалина. Было обнаружено соединение 777, которое отличается от представленных в литературе аналогов наличием аминогруппы и отсутствием метильной. Это, на первый взгляд, незначительное изменение структуры привело к увеличению цитотоксичности в 10 раз (IC_{50abs} для A549 — 4 нМ), при этом селективность действия возросла вдвое (IC_{50abs} для VA13 — 1390 нМ). Соединение 777 останавливает клеточный цикл в G2-фазе. Исходя из влияния 777 на клеточный цикл и его спектра цитотоксичности, мы предположили, что механизм действия связан с полимеризацией тубулина. Наша гипотеза подтвердилась наблюдаемыми концентрационно-зависимыми изменениями клеточной морфологии и сборки тубулина в клетках A549 после 24 ч обработки соединением 777 в диапазоне концентраций 100–400 нМ. Аналогичные эффекты на микротрубочки и клеточную морфологию наблюдались после обработки клеток комбретастатином-4 в таких же концентрациях. Таким образом, нами был оптимизирован молекулярный каркас пирроло[1,2- α]хиноксалина и получено его более цитотоксичное и селективное производное 777, для которого определен молекулярный механизм действия.

Литература

1. World Health Organization [Электронный ресурс] URL: <https://www.who.int/> (дата обращения 06.02.2025).
2. M. Montana., et al., *European Journal of Medicinal Chemistry.* 2018, 1:163:136-147.
3. E. Zelina., et al., *Tetrahedron Letters.* 2020, 151532.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 22-14-00099

МРНК-ВАКЦИНЫ: ПРОРЫВ В ЛЕЧЕНИИ РАКА

Казьмина Ю.С., Доценко А.М., Стрыгин А.В.

*Волгоградский государственный медицинский университет,
Россия, 400066, Волгоград, Рокоссовского, 1 Г,
электронная почта: iulijakazmina@yandex.ru*

МРНК-вакцины — инновационные препараты, использующие молекулы мРНК для активации иммунного ответа организма на раковые клетки.

Основное преимущество мРНК-вакцин — способность обучать иммунную систему распознавать и атаковать белки, связанные с опухолью, что помогает эффективнее бороться с раком и уменьшать размеры опухолей.

Вакцины на основе мРНК — эффективный и безопасный метод терапии, применяемый для лечения злокачественных опухолей.

МРНК-вакцины также обладают высокой степенью безопасности, так как они не содержат живых вирусов или белков, что снижает риск побочных эффектов и аллергических реакций. Кроме того, они могут быть адаптированы к индивидуальным особенностям пациента, что повышает эффективность лечения. Согласно исследованиям, мРНК-вакцины демонстрируют высокую эффективность в клинических испытаниях.

Например, вакцина против меланомы, разработанная компанией Moderna, показала увеличение выживаемости пациентов на 4,5 месяца по сравнению с плацебо¹⁻³.

В России разрабатывается мРНК-вакцина, созданная в НИЦ эпидемиологии и микробиологии имени Гамалеи совместно с НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина. Эта вакцина успешно прошла доклинические испытания и будет использоваться для лечения онкологических заболеваний.

Таким образом, мРНК-вакцины являются перспективным направлением в лечении рака, которое может существенно улучшить результаты терапии и повысить качество жизни пациентов.

Литература

1. Chandra S., et al., *Oncology Research* 2024, 32, 1543-1564.
2. Servick, K., et al., *Science* 2017, 355, 446-450.
3. Norbert P., et al., *Nature Reviews Drug Discovery* 2018, 17, 261-279.

СЕНЕСЦЕНТНОСТЬ КЛЕТОК РАЗНЫХ ТИПОВ В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ СОДЕРЖАНИЯ КИСЛОРОДА

Калиш С.В., Иванова Т.И., Кадымов Л.В., Кожевникова Е.О., Барановский Д.С., Лямина С.В.

*Научно-исследовательский центр биомедицинских исследований, ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России
Россия, 127006, г. Москва, ул. Долгоруковская дом 4
электронная почта: anahorettes@mail.ru*

Накопление сенесцентных клеток рассматривается в качестве одного из ключевых факторов формирования хронического, низкодифференцированного системного воспаления (инфламейджинг), роль и значение которого в развитии и прогрессировании различных возраст-зависимых заболеваний сегодня уже не подвергается сомнению¹⁻³. Тем не менее, поиск новых биомаркеров старения обуславливает необходимость дополнительного изучения функционального состояния стареющих клеток различных типов в изменяющихся условиях. Работа центра биомедицинских исследований включает изучение омиксных сигнатур клеток различных типов в *in vitro* моделях сенесценса при изменяющихся условиях содержания кислорода. За последние годы коллективом проведены работы по оценке фенотипических особенностей клеток разных типов в условиях гипоксии – физиоксии-гипероксии, в том числе оценке способности МСК к направленной дифференцировке, экспрессии цитокинов и хемокинов, изменению экспрессии генов, анализу протеомных сигнатур клеток. Для индукции старения *in vitro* используются разные методы, в том числе репликативное старение, воздействие

низко-дозового фракционированного облучения электронами, воздействие H₂O₂, доксорубицина. Результатом работы являются полученные *in vitro* данные, демонстрирующие значимость концентрации кислорода при культивировании клеток для оценки их функции и потенциала в восстановлении и регенерации тканей, а также потенциальная значимость работ для трансфера в клиническую практику.

Литература

1. Crunkhorn S. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2020;19:168.
2. Teissier, T., et al. *Cells* 2022, 11, 359.
3. Keenan A., et al. *J Clin Invest.* 2022;132(14):e158448.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России, проект КМ-0030-Н.

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ГИБРИДНОГО АНТИБИОТИКА НА ОСНОВЕ АЗИТРОМИЦИНА И ЭРЕМОМИЦИНА

Каракчиева А.О.^а, Волынкина И.А.^{а,б}, Бортяж М.О.^а
Федоровский А.Г.^а, Сергиев П.В.^{а,б}, Донцова О.А.^{а,б,в}

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, 119991, Москва, Россия,
электронная почта: karakchievaa21@gmail.com

^б Центр молекулярной и клеточной биологии Сколковского института науки и технологий, Большой бульвар, д. 30, стр. 1,
121205, Москва, Россия,

^в Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10,
117997, Москва, Россия.

Одним из перспективных подходов для решения глобальной проблемы антибиотикорезистентности является использование гибридных молекул – гетеродимерных структур на основе антимикробных препаратов различного механизма действия¹. В рамках данного подхода было синтезировано соединение LCTA-2441, которое состоит из азитромицина, макролидного антибиотика, ингибирующего биосинтез белка, и эремомицина, гликопептидного антибиотика, блокирующего биосинтез клеточной стенки, соединенных линкером². Исследование на панели бактериальных штаммов выявило, что LCTA-2441 активен даже в отношении штаммов, устойчивых одновременно к макролидным и гликопептидным антибиотикам². Дальнейшее изучение его механизма действия показало, что LCTA-2441 обладает рядом уникальных свойств, не присущих его предшественникам. Так, LCTA-2441 способен ингибировать трансляцию, как в бактериальной, так и в эукариотической системах, не проявляя при этом существенного токсического действия на клеточных линиях человека. При этом для LCTA-2441 свойственна уникальная специфичность к последовательности мРНК, не характерная для других макролидных антибиотиков. Вместе с тем LCTA-2441 оказался способен подавлять трансляцию на рибосомах, устойчивых к классическим макролидам. Таким образом, данное гибридное производное представляет собой перспективное соединение как для медицинских целей, так и для развития подходов направленного дизайна лекарственных препаратов.

Литература

1. Tevyashova, A. N., et al., *Russian Chemical Reviews* 2015, 84, 61-97.
2. Tevyashova, A. N., et al., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2019, 29, 276-280.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, проект 075-15-2024-630.

РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ БЕЛКОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ИНТЕГРАЗОЙ ВИЧ-1 В КОМПЛЕКСЕ С ДЛИННЫМИ КОНЦЕВЫМИ ПОВТОРАМИ ВИРУСНОЙ ДНК НА ЭТАПЕ ПОСТИНТЕГРАЦИОННОЙ РЕПАРАЦИИ

Касьянова М.М., Анисенко А.Н., Готтих М.Б.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: kasyanova.mariya@inbox.ru

Вирус иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ-1) в ходе своего жизненного цикла использует множество клеточных белков. Среди прочего, было показано, что собственные вирусные ферменты не способны эффективно восстанавливать повреждения в ДНК, образующиеся на краях длинных концевых повторов (LTR) провируса после встраивания в геном клетки-хозяина. Ранее нами было показано, что инициация процесса постинтеграционной репарации зависит от взаимодействия клеточного белка Ku70 с вирусным ферментом интегразой (IN), связанной с LTR. Однако до сих пор неизвестен полный список клеточных регуляторов этого процесса.

Для идентификации таких белков нами предложена методика ChIP-MS, предполагающая выделение фракции хроматина, содержащей IN, и последующую идентификацию клеточных белков в составе этой фракции.

Нами получены антитела к IN и разработана система, позволяющая выделять белки, ассоциированные с комплексом IN-LTR на этапе постинтеграционной репарации в клетках HEK293T, трансдуцированных псевдовиром на основе ВИЧ-1. Нами идентифицированы 1028 белков, ассоциированных с IN-LTR, в том числе 52 из систем репарации ДНК и 48 факторов ремоделирования хроматина, которые не встречаются в результатах контрольного эксперимента. В дальнейшем мы планируем провести дополнительные эксперименты по определению роли наиболее перспективных белков, найденных с помощью данной системы, в начальных этапах вирусной инфекции. Данная задача представляет не только фундаментальный интерес, но также может помочь в разработке новых лекарственных препаратов.

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ БИОКАМУФЛИРОВАНИЯ АДЕНО-АССОЦИИРОВАННЫХ ВЕКТОРОВ

Качанов А.В.^а, Пономарева Н.И.^{а,б}, Брезгин С.А.^{а,б}, Костюшева А.П.^а, Тихонов А.С.^а, Гордейчук И.В.^в, Баюрова Е.О.^в, Замятнин А.А. (мл)^{б,е}, Елисеева О.В.^а, Латышев О.Е.^а, Исагулянц М.Г.^а, Демина П.А.^г, Хайдуков Е.В.^г, Лукашев А.Н.^а, Чуланов В.П.^а, Костюшев Д.С.^{а,б,е}

^а ФГАОУ ВО Сеченовский Университет, Россия, 119048, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, электронная почта: kachanov.av99@gmail.com

^б Научно-технологический университет «Сирiuс» 354340, Краснодарский край, федеральная территория Сирiuс, Олимпийский проспект, д. 1.

^в ФГАНУ «ФНЦиРИП им. М. П. Чумакова РАН» 108819, г. Москва, п. Московский, пос. Института полиомиелита, д.в. 8, к. 1.

^г ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» 119333, Москва, Ленинский проспект, дом 59.

^д ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, дом 18.

^е Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ имени М.В. Ломоносова, 119234, г. Москва, Ленинские горы 1, стр. 73.

Адено-ассоциированный вектор (ААВ) является основной платформой в сфере заместительной генотерапии наследственных заболеваний. Данный вектор обладает рядом положительных свойств, таких как относительно низкая иммуногенность, низкий риск инсерционного мутагенеза и способность вызывать персистентную экспрессию трансгена. Однако, в ходе клинического применения ААВ было выяснено, что нейтрализующие антитела к вектору способны существенно снижать эффективность генотерапии. В рамках данной работы была разработана технология защиты ААВ от воздействия нейтрализующих антител. Технология позволяет получать «защищенные» ААВ с выходом более 40%. Полученные частицы были охарактеризованы с помощью методов криоТЭМ, динамического светорассеяния и методом анализа траектории наночастиц. Также, путем оценки эффективности трансдукции ААВ и «защищенных» ААВ после инкубации с нейтрализующей сывороткой, была продемонстрирована способность «защищенных» ААВ избегать инактивации иммунной системой. Воздействие сыворотки снижало эффективность трансдукции ААВ в 6 раз, но не оказывало влияния

на «защищенные» AAV. На основании полученных результатов был сделан вывод, что данная является перспективной для улучшения эффективности и безопасности генотерапевтических препаратов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ, проект 23-75-10025.

ВЛИЯНИЕ МУТАЦИИ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ ФАКТОРОВ SRY-DELTA И BEAF-32 НА ИХ ПРИВЛЕЧЕНИЕ В ПРОМОТОРНУЮ ОБЛАСТЬ ГЕНА *TDRD3* У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Козельчук Н.Я.^а, Четверина Д.А.^б, Ерохин М.М.^а

^а Группа биологии хроматина Института биологии гена РАН,
Россия, 119334, Москва, Вавилова, д. 34/5, электронная почта: пук95@yandex.ru,

^б Группа эпигенетики Института биологии гена РАН, Россия, 119334, Москва, Вавилова, д. 34/5

Многие топологически ассоциированные домены (TAD) у дрозофилы разделены участками активного хроматина, обогащенными инсуляторным белком BEAF-32 (Boundary Element-Associated Factor)¹. Так как деплеция BEAF-32 не приводит к глобальным изменениям в структуре TAD-ов², мы предположили, что факторы, ассоциированные с BEAF-32, могут играть роль в поддержании структуры границ TAD-ов. Одним из таких белков является транскрипционный фактор Serendipity δ (Sry- δ)³.

В ходе исследования мы выбрали несколько промоторов в геноме *Drosophila melanogaster*, связывающих как BEAF-32, так и Sry- δ . Один из таких – промотор гена *Tdrd3* (Tudor domain-containing protein 3). Мы создали трансгенную линию мух с нативными и мутантными сайтами связывания для BEAF-32 и Sry- δ в промоторе *Tdrd3*.

Уровень привлечения факторов BEAF-32 и Sry- δ к промотору *Tdrd3* оценивался с помощью метода иммунопреципитации хроматина (X-ChIP) с использованием специфичных антител к этим белкам. Уровень обогащения был измерен с использованием метода Real-time PCR.

Результаты показали, что уровень обогащения как BEAF-32, так и Sry- δ на промоторе *Tdrd3* снижался при мутации сайтов связывания этих факторов. Кроме того, связывание Sry- δ и BEAF-32 оказалось более зависимым от сайта Sry, чем от сайта BEAF-32. Таким образом, можно предположить, что для эффективного привлечения BEAF-32 необходимы как сайты BEAF-32, так и сайты Sry- δ , что указывает на комплексное привлечение этих факторов на промотор.

Литература

3. Ramírez F. et al., Nature communications. 2018, 9(1), 189.
4. Cavalheiro G. R. et al., Science Advances. 2023, 9(5), eade1085.
5. Dong Y. et al., Genetics 2020, 215(1), 89-101.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ, проект 20-74-10099.

EIF4E1 – ПЕРСПЕКТИВНАЯ МИШЕНЬ В БОРЬБЕ С ВИРУСОМ Y КАРТОФЕЛЯ

**Колесникова В.В.^{а*}, Никонова Е.Ю.^а, Андрейцев В.В.^{а,б}, Балобанов В.А.^а,
Леконцева Н.В.^а, Михайлина А.О.^а, До Ф.Т.^в, Никонов О.С.^а**

^а Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт белка Российской академии наук,
142290 Пущино, Московская область, Россия;

^б Пущинский филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ) 142290, Московская область, г. Пущино проспект Науки, дом 3;

^в Институт биотехнологии Вьетнамской академии наук и технологий, Ханой, Вьетнам.

*kolesnikovavicto@yandex.ru

Вирус Y картофеля – вредоносный патоген, существенно снижающий урожайность картофеля и некоторых других важных сельскохозяйственных культур. Создание устойчивых сортов является наиболее перспективной стратегией в борьбе с данным вирусом. Известно, что нарушение взаимодействия

вирусного белка VPg и клеточного белка eIF4E является критичным для развития вирусной инфекции¹⁻³. Технологии редактирования геномов позволяют относительно быстро получить новые сорта. Внеся несколько мутаций, которые приведут к аминокислотной замене, можно добиться проявления устойчивости растений к потивирусу. Нашей группой уже получена модель комплекса VPg-eIF4E, которая позволяет прогнозировать роль мутаций на комплексообразование⁴, а также разработана методика получения рекомбинантных белков для проверки взаимодействия двух указанных белков и их мутантных вариантов в условиях *in vitro*. Разработанная модель прекрасно согласуется с биохимическими данными. В процессе анализа аминокислотных последовательностей VPg разных представителей потивирусов мы выявили закономерности, которые косвенно указывают на механизм взаимодействия VPg с eIF4E. Кроме прикладного интереса в создании новых сортов с высоким уровнем устойчивости к упомянутому семейству вирусов, полученные данные помогут уточнить механизм инициации трансляции потивирусных РНК.

Литература

1. Michel, V. et al., *Molecular Plant Pathology* 20, 1051–1066 (2019).
2. Ruffel, S. et al., *The Plant Journal* 32, 1067–1075 (2002).
3. Gallois, J.-L. et al., *Journal of General Virology* 91, 288–293 (2010).
4. Lebedeva, M. et al., *Biochimie* 219, 1–11 (2024).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-44-04007.

НОВЫЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ СПЕЦИФИЧНОСТИ ИНГИБИТОРОВ ТРАНСЛЯЦИИ К НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ МРНК

Комарова Е.С.^а, Никандрова А.А.^{а,б}, Сергиев П.В.^{а,б}, Донцова О.А.^{а,б,в}

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,

^б Сколковский институт науки и технологий, Большой бульвар, 30, Сколково, Московская область, 143025, Россия,

^в Институт биоорганической химии имени М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, 117997, Россия.

электронная почта: ekaandreyanova@yandex.ru

Трансляция – процесс перевода последовательности матричной РНК (мРНК) в последовательность аминокислот рибосомой. При этом мРНК выступает посредником в данном процессе, передавая информацию с ДНК на рибосому, в то же время её структура и состав могут оказывать влияние на эффективность биосинтеза белка. Трансляция лежит в основе всех живых организмов и является мишенью для действия различных антибиотиков, способных связываться с функциональными центрами рибосомы и блокировать её на разных стадиях, приводя к остановке роста или гибели клеток. До недавнего времени такие ингибиторы считались универсальными. Однако в более поздних работах показали, что они обладают выраженной специфичностью в отношении последовательности мРНК, кодирующей белок, синтезируемый рибосомами¹⁻³.

В задачу данного проекта входит создание системы широкомасштабного анализа предпочтений в действии антибиотиков на транслирующие рибосомы. Одной из её составляющих является библиотека мРНК с вариабельным участком в кодирующей области для выявления остановок рибосом, транслирующих эти мРНК, в присутствии различных ингибиторов. Пример такой системы для эукариот мы представим.

Данный подход можно использовать как в эукариотической системе трансляции, так и в бактериальной, что даёт возможность проводить анализ антибиотической активности с разных сторон. Его применение может внести вклад в детальное изучение молекулярных основ механизма действия антибиотиков и в открытие новых направлений в решении проблемы активного развития резистентности к ним.

Литература

1. Amber R.D., et al., *PNAS* 2014, 111, 15379-15384.
2. Marks J., et al., *PNAS* 2014, 113, 12150-12155.
3. Leroy E.C., et al., *Nat Chem Biol* 2023, 19, 1091-1096.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-74-00057.

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА МЫШЕЙ С МУТАЦИЕЙ В ГЕНЕ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА NRF2

Кондратенко Н.Д.^{а,б}, Егоров Е.С.^б

^а НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
119992 Москва, Россия,
электронная почта: nataliadkon@gmail.com

^б Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
факультет биоинженерии и биоинформатики, 119234 Москва, Россия

Транскрипционный фактор NRF2 участвует в процессах воспаления, поддержания редокс-баланса, метаболизме ксенобиотиков, а также представляет особый интерес для изучения старения. В данной работе с помощью технологии CRISPR/Cas9 была получена новая линия трансгенных мышей NRF2^{ΔNeh2}, у которых в гене *Nfe2l2*, кодирующем транскрипционный фактор NRF2, была внесена мутация, приводящая к замене 8 аминокислотных остатков на N-конце белка. Было показано, что у гомозиготных мышей NRF2^{ΔNeh2/ΔNeh2} наблюдается повышенная эмбриональная смертность и признаки анемии. Мышечные эмбриональные фибробласты (МЭФы) гомозигот были менее устойчивы к окислительному стрессу по сравнению с МЭФами дикого типа. В тканях гомозиготных животных NRF2^{ΔNeh2/ΔNeh2} отмечалось снижение экспрессии генов-мишеней NRF2, таких как *Nqo1*, *Aox1*, *Gsta4*, а также повышение экспрессии маркеров воспаления *Ccl2*, *Vcam1* и *Cxcl8*. Полученная линия мышей NRF2^{ΔNeh2} может быть использована для изучения эмбриональной смертности, а также различных патологий, связанных с окислительным стрессом и воспалением.

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ИПСК КАРДИОМИОЦИТОВ

Кононова Д.В., Робустова С.Д., Щербина С.А., Слотвицкий М.М., Цвелая В.А., Агладзе К.И.

Московский физико-технический институт, Долгопрудный

Нашей группой было проведено исследование формирования проводящего слоя клеток, полученных из ИПСК дифференцировкой в кардиомиоциты по Gi-Wi протоколу¹. В ходе работы было выявлено, что клетки, рассаживаемые до 20 дня дифференцировки, могут эффективно формировать функциональный синцитий. Клетки, рассаживаемые после 20 дня, не формируют функциональный слой. В связи с этим явлением была выдвинута гипотеза, предполагающая, что нарушается формирование щелевых контактов. Однако, так как флуоресцентное окрашивание на белок Sx43 не выявило изменений до и после 20 дня, данное предположение было отвергнуто. Для того, чтобы выяснить, что вызывает изменение электрофизиологических показателей после 20 дня решено было провести анализ на уровне транскриптома.

Образцы трех разных дней дифференцировки (0, 17 и 25) были заморожены и отправлены для анализа транскриптома. Там была выделена тотальная РНК, проведено обогащение библиотек по мРНК и секвенирование (Illumina NovaSeq). Мы получили парноконцевые чтения для каждого образца и для них провели анализ дифференциальной экспрессии (salmon, DESeq) для пар 0-17, 0-25 и 17-25 день. Сравнениями 0-17 и 0-25 подтвердили, что образцы 17 и 25 дня являются кардиомиоцитами и получили списки дифференциально экспрессируемых генов. Из списков видно, что повышается экспрессия (от 17 к 25 дню) ряда белков сократительного аппарата (MYH7, TNNC1) и белков EMC (SPOCK2, MGP, ITLN1).

Литература

1. Slotvitsky M.M. et al. Formation of an electrical coupling between differentiating cardiomyocytes // Scientific Reports 2020. Vol. 10, № 1. P. 7774.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ ПОЛУРЕАКЦИИ КАТАЛИТИЧЕСКОГО МЕХАНИЗМА 2-ГИДРОКСИБИФЕНИЛ-3-МОНООКСИГЕНАЗЫ

Копылов К.Е., Кирилин Е.М., Швядас В.К.

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр.73
электронная почта: k.e.kopylov@belozersky.msu.ru*

2-Гидроксибифенил-3-монооксигеназа является перспективным катализатором препаративного синтеза замещённых ароматических соединений¹. Однако механизм действия фермента на молекулярном уровне, состоящего из окислительной и восстановительной полуреакций, изучен недостаточно и это сдерживает практическое использование фермента. Первая стадия каталитического цикла – восстановление FAD с помощью NADH до аниона FADH, была изучена с помощью комбинированных методов квантовой механики/молекулярной механики (QM/MM)² и позволила понять роль конформационной пластичности молекулы белка в связывании NADH, установить основной вклад тройного стэкинг-взаимодействия никотинамидного и изоаллоксазинового колец во взаимодействие NADH и FAD, а также выявить аминокислотные остатки активного центра, стабилизирующие комплекс с переносом заряда и определяющие стереоспецифичность Pro-S переноса гидрида; все эти факторы обеспечивают низкий (13 ккал/моль) энергетический барьер восстановительной полуреакции. Моделирование стадии окисления субстрата пероксидным производным FAD также проводили с помощью QM/MM и полуэмпирического метода DFTB3 для исследования поверхности потенциальной энергии методом метадинамики³ в двумерных координатах реакции (коллективных переменных) – депротонирования субстрата и переноса гидроксильной группы с FAD-C₄-OOH на субстрат. Проведенное моделирование показало важность карбоксилатной пары Asp117-Asp222 и остатка Arg242 в активном центре, которые способствуют переносу протона с субстрата на остаток His48 и обеспечивают энергетический барьер 14 ккал/моль для окислительной полуреакции. Детальная характеристика полного каталитического цикла делает возможной оптимизацию биокаталитических технологий с использованием 2-гидроксибифенил-3-монооксигеназы.

Литература

1. Suman J et al. *Chemosphere* 2024, 349, 140909.
2. Kopylov K. et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2023, 639, 77–83.
3. Tribello G.A. et al., *Comput. Phys. Commun.* 2014, 185, 604–13.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 21-71-30003.

БИОМИМЕТИЧЕСКИЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ ДОСТАВКИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ

Короткова Н.А., Котельникова П.А., Деев С.М.

*Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.16/10,
электронная почта: korotkovaha@yandex.ru*

Проблема эффективной доставки терапевтических агентов, таких как наночастицы, остается актуальной в современной медицине. Одним из перспективных подходов является создание биомиметических наночастиц (искусственно созданных частиц, структура и свойства которых имитируют природные материалы), использующих клеточные мембраны для инкапсуляции таргетных агентов. Данный метод позволяет воспользоваться естественными механизмами адгезии и маскировки от иммунного ответа.

Поверхность из мембран раковых клеток позволяет доставить препарат к клеткам, аналогичным использованным при покрытии. Оболочка из мембран эритроцитов маскирует терапевтический агент от иммунного ответа. Однако, технологии извлечения везикул из клеток и модификации наночастиц разработаны недостаточно. В работе исследованы методы синтеза везикул из мембран клеток и их

применение для покрытия наночастиц. Результаты работы способствуют разработке новых методов лечения различных заболеваний.

Литература

1. Liu H., et al., *Drug Deliv. and Transl. Res.* 2023, 13, 716–737.
2. Malhotra S., et al., *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology.* 2022, 14(3), e1776.
3. Chen, L., Hong, W., Ren, W. et al. *Sig Transduct Target Ther.* 2021, 6, 225.
4. Xia Q., et al., *Acta Pharmaceutica Sinica B.* 2019, 4(9), 675-689.
5. Zhu L, et al., *Materials Today Bio.* 2022, 14, 100228.

РОЛЬ БЕЛКА hTERP В ОТВЕТЕ НА СТРЕСС ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА

Корягина М.С.^{а,б}, Шамонова М.А.^а, Рубцова М.П.^{а,б}, Донцова О.А.^{а,б,в}

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,

^б Институт биоорганической химии им. Академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Россия, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10,

^в Центр молекулярной и клеточной биологии Сколковского института науки и технологий, Большой бульвар. 30, Сколково, Московская область, 143025, Россия.

Теломеры представляют собой комплексы, в которых концевые участки линейных хромосом эукариот, состоящие из повторяющихся коротких последовательностей, защищены специальными белками от потери генетической информации во время репликации и под действием эндонуклеаз. С каждым делением клетки теломеры укорачиваются, что в конечном итоге приводит к старению клетки и запускает программу клеточной гибели, благодаря чему организм избавляется от клеток, содержащих мутации. Однако, в большинстве активно пролиферирующих клеток теломерные повторы восстанавливаются с помощью специального рибонуклеинового комплекса — теломеразы. Основными компонентами теломеразы являются обратная транскриптаза и теломеразная РНК (TERC), которая служит матрицей для синтеза теломерных повторов. Долгое время теломеразная РНК считалась некодирующей, однако позднее было установлено, что транскрипт hTERC содержит открытую рамку считывания. Известно, что зрелая форма теломеразной РНК входит в состав активной теломеразы, тогда как более длинная незрелая форма функционирует как мРНК, кодирующая белок hTERP. Было показано, что данный белок участвует в регуляции аутофагии и способствует выживанию клеток в условиях стресса^{1,2}.

Предполагается, что в условиях, когда теломераза не активна, преобладает незрелая форма теломеразной РНК и синтезируется белок hTERP, который участвует в ответе клетки на стрессовые условия. Мы обнаружили, что отсутствие белка hTERP приводит к нарушениям в ответе на стресс эндоплазматического ретикулума и активации UPR (unfolded protein response) за счет снижения ингибирования общей трансляции, а также активации систем фолдинга белков и деградации неправильно свернутых белков.

Литература

1. Rubtsova M., et al., *Nucleic Acids Res.* 2018, 46, 8966-8977.
2. Shliapina V., et al., *Front Cell Dev Biol.* 2021, 9, 754611.

ФОРМИРОВАНИЕ КОМПЛЕКСА НУКЛЕОСОМА-Р53 С PARP1 ПРИ НАЛИЧИИ H2A.Z

Кошкина Д.О.^а, Новичкова А.М.^а, Малюченко Н.В.^а, Афонин Д.А.^{а,б}, Студитский В.М.^б, Феофанов А.В.^{а,в}

^а Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова; 119234

^б Онкологический центр Фокс Чейз; США, Филадельфия, 19111

^в Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; 117997

Белки PARP1 и p53 играют важную роль в поддержании целостности генома и восстановлении ДНК,

а также являются непосредственными участниками канцерогенеза. P53 и PARP1 взаимодействуют на многих уровнях, как непосредственно, так и за счёт поли(АДФ)-рибозилирования определенных участков p53¹. Углубленное понимание механизмов их взаимодействия может открыть новые перспективы в изучении развития рака и разработке потенциальных терапевтических стратегий.

Хроматин эукариот состоит из ДНК и белков, в основном гистонов, которые организуют и регулируют его структуру. Нуклеосомы, основные единицы хроматина, содержат канонические гистоны (активные в S-фазу) и их варианты, которые обеспечивают более тонкий контроль взаимодействия с хроматином на протяжении клеточного цикла. Вариантный гистон H2A.Z в основном участвует в активации генов. Помимо регуляции транскрипции, он играет роль в репарации ДНК и поддержании стабильности генома, изменяя стабильность нуклеосом и доступность ДНК². В качестве модельного объекта в данном исследовании использовали флуоресцентно меченные нуклеосомы, полученные с использованием канонических человеческих рекомбинантных гистонов и с заменой H2A на H2A.Z. Анализ проводился методом гель-шифт в полиакриламидном геле в нативных условиях. По результатам можно сделать вывод о том, что нуклеосомы, содержащие H2A.Z, более предрасположены к формированию тройного комплекса нуклеосома-p53-PARP1. Это можно рассматривать как проявление пионерной активности, так как белки PARP1 и p53 также рассматриваются как пионерные факторы транскрипции.

Литература

1. Wei-Min Tong, Ulrich Cortes, Zhao-Qi Wang, Poly(ADP-ribose) polymerase: a guardian angel protecting the genome and suppressing tumorigenesis, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, Volume 1552, Issue 1, 2001, Pages 27-37, ISSN 0304-419X
2. Li, S., Wei, T. & Panchenko, A.R. Histone variant H2A.Z modulates nucleosome dynamics to promote DNA accessibility. *Nat Commun* 14, 769 (2023).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 19-74-30003.

СИНТЕЗ ЗАПАСНЫХ АМИЛОИДОГЕННЫХ БЕЛКОВ РАСТЕНИЙ В КЛЕТКАХ ДРОЖЖЕЙ *KOMAGATAELLA PHAFFII*

Кравченко М.А., Макеева А.С., Румянцев А.М., Нижников А.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9
электронная почта: st055791@student.spbu.ru

Амилоиды представляют собой высокоупорядоченные фибриллярные белковые агрегаты. Большой научный интерес к амилоидам связан с их способностью вызывать неизлечимые заболевания человека и животных. Однако, многие амилоиды не являются патологическими и могут выполнять физиологическую роль в клетках.

Недавно впервые были идентифицированы функциональные амилоиды растений, образуемые запасными белками семян гороха (в частности, вицилином)¹. Более того, было показано, что вицилин ингибирует формирование патологических амилоидов и снижает их токсичность для клеток млекопитающих *in vitro*².

Для дальнейшего изучения растительных амилоидов требуется возможность эффективно синтезировать различные их варианты. Для этого необходимо выбрать наиболее эффективный организм-продуцент. Дрожжи *Komagataella phaffii* являются одной из наиболее популярных систем синтеза рекомбинантных белков благодаря высокой продуктивности и наличию эффективных систем секреции³. Выбор данной дрожжевой системы экспрессии также обусловлен способностью *K. phaffii* эффективно осуществлять посттрансляционные модификации белков³. Такие модификации влияют на пространственную укладку белка, что может быть критически важным при работе с амилоидогенными белками.

В данной работе были получены штаммы метилотрофных дрожжей *K. phaffii*, несущие генетические конструкции для внутриклеточного и секреторного синтеза полноразмерного вицилина, а также его фрагментов — купина-1.1 и купина-1.2. Купины представляют собой консервативные домены вицилина, которые по отдельности также способны формировать амилоидные фибриллы¹.

Литература

1. Antonets, K. S., et al., *PLoS Biol.* 2020, 18 (7), e3000564.
2. Sulatsky, M. I., et al., *Int J Mol Sci.* 2023, 24(16), 12932.
3. Karbalaeei M., et al., *J Cell Physiol.* 2020, 235 (9), 5867-5881.

Работа выполнена при поддержке СПбГУ, шифр проекта 124032000041-1.

НОКАУТНЫЙ CRISPR-СКРИНИНГ ВЫЯВИЛ ВЛИЯНИЕ SLC35B2 И SLC39A8 НА ХАРАКТЕР ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВИРУСА ЯПОНСКОГО ЭНЦЕФАЛИТА С КЛЕТКАМИ ЧЕЛОВЕКА

Круглов И.И.^{а,б,в}, Кущенко А.С.^{в,г}, Тучинская К.К.^а, Бавыкин А.С.^в,
Поташникова Д.М.^б, Карганова Г.Г.^{а,б}, Дмитриев С.Е.^{в,г}

^а ФНЦИРИП им. М.П.Чумакова РАН» (Институт полиомиелита),
Россия, 108819 Москва, пос. Московский, д/вл. 8, корп. 1

^б Биологический факультет,

^в НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского и
^г Факультет биоинженерии и биоинформатики, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119234 Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: ilia_kruglov@hotmail.com

Вирусы рода *Orthoflavivirus*, включая вирус японского энцефалита (ВЯЭ), представляют серьезную угрозу для здоровья человека. Для разработки новых противовирусных стратегий важно изучить молекулярные механизмы взаимодействия этих вирусов с клетками хозяина. В данном исследовании был применён нокаутный CRISPR-Cas9 скрининг на культивируемых клетках человека НЕК293Т для выявления факторов хозяина, необходимых для их устойчивости к цитопатическому действию вируса.

Проведённый нами первичный скрининг выявил ген *SLC35B2*, кодирующий транспортер 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфата, который играет важную роль в синтезе и присоединении остатков гепарансульфатов к поверхностным белкам клетки¹. Линия НЕК293Т с нокаутом этого гена при инфицировании ВЯЭ показала значительное снижение уровня вирусной РНК в культуральной жидкости. Эта линия была использована для вторичного скрининга, который позволил идентифицировать ген *SLC39A8*, кодирующий транспортер ионов металлов ZIP8 и также задействованный в гликозилировании белков², как дополнительный фактор воспроизводства вируса. Для анализа роли обоих генов в вирусной инфекции были созданы линии клеток с одиночным нокаутом *SLC39A8* и двойным нокаутом *SLC35B2/SLC39A8*, которые продемонстрировали снижение уровня вирусной РНК в культуральной жидкости по сравнению с исходной линией.

С учётом функций генов *SLC35B2* и *SLC39A8* можно предположить, что их продукты задействованы во внутриклеточных процессах, обеспечивающих прикрепление вируса к поверхности клетки и его последующее проникновение, и могут рассматриваться в качестве мишеней для разработки препаратов, направленных против ВЯЭ.

Литература

1. Kamiyama et al., *Biologics*, 2024, 4(3), 242-279.
2. Nebert and Liu, *Hum Genomics*, 2019, 13(s1), 51.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 23-14-00218 и государственного задания FNGZ-2024-0008.

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ОЦЕНКИ КОГНИТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ ПОСЛЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Куканова А.А., Тынтерова А.М., Шушарина Н.Н.

Балтийский федеральный университет имени И. Канта, Россия, 236041, Калининград, ул. А. Невского, д. 14,
электронная почта: AAKukanova@stud.kantiana.ru, ANTynterova@mail.ru, NShusharina@kantiana.ru.

В структуре инвалидизации пациентов, перенесших ишемический инсульт (ИИ), одним из ведущих факторов, являются постинсультные когнитивные нарушения (ПИКН), в связи с чем в настоящее время повышенное внимание уделяется вопросам разработки математических моделей, позволяющих спрогнозировать развитие и течение ПИКН.

Цель исследования – на основании математического анализа выявить факторы риска, влияющие на степень ПИКН в 6-ти месячный срок от развития ИИ.

Материалы и методы. Данные 192 пациентов с ИИ. Степень ПИКН оценивалась с использованием шкалы CDR через 6 месяцев после ИИ. Были проанализированы: степень доинсультного снижения (IQCODE), исходные показатели функций внимания, памяти, когнитивной гибкости, восприятия, праксиса. Методы статистики: робастная регрессия, методы машинного обучения (RandomForest, XGBoost).

Результаты. Регрессионный анализ ($R^2 = 0,946$) выявил зависимость показателя CDR от функций внимания ($\beta = -0,1804$), когнитивной гибкости ($\beta = -0,0689$), IQCODE ($\beta = 0,6159$). Недостатками метода являлись мультиколлинеарность (9.3092) и положительная автокорреляция остатков (1.472). Модели ML показали высокую точность ($MSE = 0,07$; $R^2 = 0,92$; $MAE = 0,10$), выявили релевантность IQCODE ($r = 0,468$) в отношении CDR. Недостатками ML являлось отсутствие параметров тренировочной выборки.

Заключение. Значимыми факторами, определяющими развитие и течение ПИКН, являются показатели внимания, когнитивной гибкости и IQCODE. Несмотря на продемонстрированную эффективность, настоящая модель имеет ряд недостатков, что обуславливает проведение дальнейших исследований с расширением объема выборки и потенциальных предикторов.

Литература

1. Breiman L. Random Forests. Machine Learning, 2001, 45(1), 5–32.
2. World Health Organization. Global Health Estimates 2019: Death by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000–2019. Geneva: WHO; 2020.

Работа выполнена в рамках государственного задания FZWM-2024-0013.

СРАВНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ СИНТЕЗА ФУРАНОКУМАРИНОВ В РАСТЕНИЯХ РОДА *HERACLEUM*

Кульбачная М.А., Штратникова В.Ю., Логачёва М.Д.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: marikulbach@gmail.com

В большинстве растений семейства Зонтичные наблюдается синтез вторичных метаболитов, относящихся к группе фуранокумаринов. Эти вещества преимущественно известны своими фотосенсибилизирующими свойствами – способность вызывать появление ожогов кожи при контакте с солнечным светом. Однако они также обладают спектром ценных фармакологических свойств.

В данной работе был проведён анализ транскриптомов двух представителей рода *Heracleum*, относящегося к семейству Зонтичных. Первый из них – Борщевик сосновского (*Heracleum sosnowskyi*) – известен своей токсичностью и инвазивностью, а второй – Борщевик сибирский (*Heracleum sibiricum*) – не имеет таких свойств.

В ходе исследования был произведён поиск гомологов генов, участвующих в синтезе фуранокумаринов, в транскриптомах обоих видов. При работе с Борщевиком сосновского опирались на ранее

собранный геном (Schelkunov et al., 2024). Для Борщевика сибирского была проведена сборка транскриптома *de novo*. Поиск осуществлялся программой BLASTN (Camacho et al., 2009) с порогом $evalue = 10^{-100}$ и $score > 200$ на основании базы, содержащей все ранее идентифицированные и физиологически подтвержденные гены синтеза фуранокумаринов из других растений, преимущественно семейства Зонтичных. Для определения кандидатов также был установлен порог нормализованного уровня экспрессии ZFPKM > 0.5 и покрытие гена ридами на пороге не менее 30. В результате были выявлены гены-кандидаты для следующих ферментов: умбеллиферон-диметилаллилтрансферазы, мармезин-синтазы, колумбианетинсинтазы, псорален-синтазы, ангелицин-синтазы, бергаптол-О-метилтрансферазы. Несмотря на то, что в транскриптоме Борщевика сибирского присутствовали гены, необходимые для синтеза основных фуранокумаринов, их экспрессия была значительно ниже, чем у Борщевика Сосновского. Отсутствие высокоэкспрессируемого гена U8DT, ответственного за синтез наиболее токсичных угловых фуранокумаринов, объясняет их низкое количество в борщевике сибирском.

Литература

1. Camacho et al., *BMC Bioinformatics* 2009, 10(1), 421.
2. Schelkunov et al., *The Plant Journal* 2024, 117(2), 449–463.

БЕЛОК PAIP2 *D. MELANOGASTER* СВЯЗЫВАЕТСЯ С БЕЛКОМ ENY2 И ВЗАИМОДЕЙСТВУЕТ С КОМПЛЕКСОМ TREX-2 В СОСТАВЕ МРНП ЧАСТИЦ ГИСТОНОВ

Куршакова М.М., Якушева Ю.А., Копытова Д.В., Георгиева С.Г.

Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, улица Вавилова, 32.

Одним из ключевых регуляторов экспорта мРНК из ядра в цитоплазму является эволюционно консервативный комплекс TREX-2. Ранее в нашей группе был выделен общий комплекс TREX-2 *D. melanogaster* с белками комплекса ORC¹. TREX-2-ORC связывается с мРНК частицами, ассоциирован с ядерными порами, необходим для экспорта мРНК, а ORC компоненты комплекса взаимодействуют с экспортным рецептором NXF1 и необходимы для связывания NXF1 с мРНК.

Ранее было показано, что TREX-2 необходим для экспорта большинства поли(А)-содержащих мРНК, но мы показали, что белки TREX-2-ORC также ассоциированы с единственными неполиаденируемыми мРНК в клетке – мРНК, кодируемыми репликативно-зависимыми генами гистонов². В ДГС скрининге нами был найден новый партнер субъединицы TREX-2 белка ENY2 *D. melanogaster* – РНК-связывающий белок Paip2³. Paip2 непосредственно связывается с ENY2 *in vitro*, взаимодействует с ENY2 *in vivo* на молекулярном и генетическом уровне, ассоциирован с TREX-2. Paip2 и ENY2 совместно присутствуют в локусе кластера генов гистонов и в HLB тельце. Paip2 вместе с ENY2 и другими компонентами TREX-2 ассоциирован с мРНК частицами гистонов. Нокдаун Paip2 приводит к уменьшению связывания субъединиц TREX-2 с мРНК гистонов.

Мы показали, что комплекс TREX-2-ORC также существует в клетках человека⁴. Экспрессия PAIP2, ENY2, генов гистонов повышена в клетках рака молочной железы. TREX-2-ORC и Paip2 могут быть вовлечены в повышение экспорта мРНК гистонов при онкотрансформации.

Литература

1. Kopytova et al., *Nucleic Acids Res.* 2016, 44: 4920-4933.
2. Куршакова и др. *Доклады академии наук. Науки о жизни* 2024, 514, 44-49.
3. Куршакова и др. *Молекулярная биология* 2024, 58, 448-461.
4. Куршакова и др. *Доклады академии наук. Науки о жизни* 2023, 513, 88-92.

Работа была выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-24-00349.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ РНК-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В ЖИЗНЕННОМ ЦИКЛЕ ПИКОРНАВИРУСОВ, ПОСРЕДСТВОМ CRISPR-СКРИНИНГА

Кущенко А.С.^{а,б}, Головкин В.А.^{а,б}, Алексеева О.Н.^д, Гробушкин П.А.^{а,б},
Ферберг А.С.^{а,г}, Панова Е.А.^{а,б}, Красота А.Ю.^{а,е}, Ивин Ю.Ю.^е, Сухинина А.П.^{а,б},
Иванова О.Е.^е, Агол В.И.^а, Липатова А.В.^д, Дмитриев С.Е.^{а,б*}

^а НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,

^б Факультет биоинженерии и биоинформатики,

^в Биологический факультет и

^г Химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119234 Москва, Ленинские горы, д. 1;

^д Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН,
Россия, 119991 Москва, ул. Вавилова, д. 32;

^е ФНЦИРИП им. М.П.Чумакова РАН (Институт полиомиелита),
Россия, 108819 Москва, пос. Московский, д/вл. 8, корп. 1;

* электронная почта: sergey.dmitriev@belozersky.msu.ru

Пикорнавирусы – это семейство (+)РНК-содержащих вирусов, вызывающих разнообразные заболевания человека и животных. Их мРНК содержат участки внутренней посадки рибосом (IRES), большинству из которых для эффективной работы, помимо классических трансляционных факторов, требуются клеточные РНК-связывающие белки – ITAF (IRES trans-acting factors). Репертуар ITAF, используемых IRES-элементами разных пикорнавирусов, изучен недостаточно.

Мы провели нокаутные CRISPR/Cas-скрининги на устойчивость культивируемых клеток HEK293T к цитопатической инфекции, вызываемой несколькими представителями пикорнавирусов из разных групп: вирусом энцефаломиокардита (EMCV), несколькими серотипами эховирусов (ECV) и вирусом Коксаки (CVA и CVB). Среди идентифицированных «хитов» обнаружился ген РНК-связывающего белка: PA2G4 в случае EMCV (был известен ранее как ITAF45 – фактор, необходимый для работы IRES-элемента вируса ящура FMDV), STRAP в случае двух CVA (он и его партнёр CDSE1/unp были ранее идентифицированы в качестве ITAF риновируса HRV) и MBNL1 в случае нескольких ECV и CVA (роль которого в вирусных инфекциях ранее не была показана, однако он является партнёром PTBP1 – известного ITAF, необходимого почти всем пикорнавирусным IRES-элементам).

Клетки, нокаутные по генам *PA2G4*, *STRAP*, *CSDE1* и *MBNL1*, были проанализированы на устойчивость к разным пикорнавирусам и на способность поддерживать IRES-зависимую трансляцию репортерных мРНК в культивируемых клетках и в бесклеточных системах, приготовленных на их основе. Результаты этой работы показали сложный и неоднозначный характер зависимости неканонической трансляции от присутствия данных белков.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 23-14-00218.

СИСТЕМАТИЧЕСКИЙ ПОИСК И ВАЛИДАЦИЯ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ЛИГАНДОВ НАТИВНОГО И ГЛИКИРОВАННОГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА, МОДУЛИРУЮЩИХ ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С В-АМИЛОИДНЫМ ПЕПТИДОМ

Литус Е.А., Шевелёва М.П., Немашкалова Е.Л., Вологжанникова А.А., Дерюшева Е.И.

Институт биологического приборостроения РАН – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Россия 142290, МО, г. Пущино,
электронная почта: ealitus@gmail.com

Дисбаланс между продукцией и выведением β-амилоидного пептида (Aβ) является ключевым фактором патогенеза болезни Альцгеймера (БА). Предотвратить накопление Aβ в ЦНС можно за счёт усиления его связывания с сывороточным альбумином человека (ЧСА). Связывая мономерную форму Aβ в кровотоке и цереброспинальной жидкости, ЧСА сдвигает равновесие в сторону выведения Aβ из ЦНС. Замена ЧСА пациента на очищенный фармакологический препарат методом плазмафереза позволяет стабилизировать когнитивный статус пациентов с диагнозом БА. С другой стороны, низкомолекулярные лиганды ЧСА способны влиять на взаимодействие ЧСА-Aβ¹⁻³. Усиление данного взаимодей-

ствия представляется малоинвазивным перспективным подходом для профилактики и лечения БА. Разработанный нами биоинформатический подход позволил выделить среди низкомолекулярных лекарственных препаратов – лигандов ЧСА панель из 100 кандидатов¹, потенциально модулирующих связывание ЧСА с Аβ. Кандидаты были разделены на группы в зависимости от области связывания с ЧСА и его гликированной формой (уровень повышен у пациентов с БА). Экспериментальная проверка представителей групп подтвердила, что ибупрофен, серотонин и преднизон усиливают взаимодействие ЧСА с Аβ: методом поверхностного плазмонного резонанса было зафиксировано снижение равновесной константы диссоциации (K_D) комплекса ЧСА-Аβ в 3-17 раз¹⁻³. В присутствии мефенамовой кислоты было зафиксировано повышение K_D ¹. Полученные результаты согласуются с клиническими данными и могут стать основой для разработки новых подходов к лечению и профилактике БА.

Литература

1. Deryusheva, E. I., et al., *Int J Mol Sci* 2024, 25.
2. Litus, E.A., et al., *Int J Mol Sci* 2021, 22.
3. Litus, E.A., et al., *Int J Mol Sci* 2022, 23.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 20-74-10072.

ПОИСК ФАКТОРОВ ФОРМИРОВАНИЯ БИОПЛЕНОК У *ESCHERICHIA COLI* K-12 И NISSLE 1917

Магкаев А.Т.^{а,в}, Кузнецова У.Д.^{б,в}, Бессонова Т.А.^{в,г,д}, Тутукина М.Н.^{в,г,д}

^а Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики»

^б РНИМУ имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

^в Институт общей генетики им Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

^г Институт биофизики клетки РАН (ФИЦ ПНЦБИ РАН), Пущино, Россия

^д Институт проблем передачи информации РАН, Москва, Россия

Биоплёнки играют важную роль в патогенности *E. coli* и часто являются причиной развития хронических заболеваний. Формирование биоплёнок регулируется рядом транскрипционных факторов и некодирующих РНК, но полного понимания этого процесса пока нет. Целью нашей работы было исследование роли регуляторов метаболизма гексуронатов UxuR и YjjM, и глобального метаболического регулятора cAMP-CRP, а также поиск низкомолекулярных веществ, способных снижать эффективность образования биоплёнок

На основании молекулярного докинга была выявлена высокая аффинность D-глюкуроновой и D-галактуроновой кислот к белкам-регуляторам. Показано снижение образования биоплёнок у штамма K-12 MG1655 при добавлении гексуронатов, при этом пробиотический штамм *E. coli* Nissle 1917 оказался устойчив к действию этих соединений, что делает их потенциальными кандидатами в пробиотические добавки.

С помощью ОТ-ПЦР в реальном времени было показано, что YjjM сильно активирует РНК CsrC, участвующую в регуляции образования биоплёнок, а малые РНК гена *ixuR* подавляют экспрессию генов подвижности (*fliA*, *flgK*) и снижают флуктуацию в экспрессии гена основной сигма-субъединицы подвижности *fliA*. Это говорит о, возможно, ключевой роли малых РНК в регуляции процесса формирования биоплёнок и о важности метаболизма гексуронатов. cAMP-CRP действует, по-видимому, опосредованно, через регуляцию других регуляторов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-24-00435.

MYC СТАТУС CD133-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК ГЛИОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА

Мазур Д.В.^а, Антипова Н.В.^{а,б}

^а ФГБУН ГНЦ "Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова" РАН,
Россия, 117997, Москва, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10,
электронная почта: dianamazur@yahoo.com

^б Национальный исследовательский университет "Высшая школа экономики",
Россия, 101000 Москва, ул. Профсоюзная, 33/4.

Глиобластома (GBM) является наиболее распространенной злокачественной опухолью мозга у взрослых. Она известна своей обширной меж- и внутриопухолевого гетерогенностью, которая затрудняет поиски универсального эффективного лечения. Другой проблемой в лечении GBM является высокая доля стволовых клеток глиобластомы (GSC), которые вносят значительный вклад в молекулярную и клеточную гетерогенность GBM из-за их способности к самообновлению и дифференцировке. Более того, GSC более устойчивы к радио- и химиотерапии, чем дифференцированные клетки GBM. Некоторые факторы транскрипции (TF), такие как MYC и MYCN, участвуют в поддержании и самообновлении пула раковых стволовых клеток (CSC) многих типов рака, включая GBM. Для GBM характерна особенно высокая транскрипционная дерегуляция, в которой важную роль играют TF. При этом роль таких TF как HAND2, PHOX2A, PHOX2B и PRRX1 мало изучена в GBM. Работа посвящена изучению экспрессии генов различных TF, в частности из семейства MYC. Показано, что в первичных культурах GBM, отсортированных по маркеру CSC CD133, экспрессия генов семейства MYC, а также генов HAND2, PHOX2A, PHOX2B и PRRX1 была повышена в CD133-положительных клетках. При этом в CD133-отрицательной популяции экспрессия генов в некоторых случаях была представлена на низком уровне, а в других случаях она отсутствовала вовсе. Полученные данные свидетельствуют о роли пула стволовых клеток в дерегуляции транскрипции в клетках GBM.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-15-00097.

ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ В САЙТЕ СВЯЗЫВАНИЯ SAM НА АКТИВНОСТЬ МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ THUMP2

Марьясина С.С.^а, Болихова А.К.^{а,б}, Хохлова М.А.^а, Руденко А.Ю.^а,
Серебрякова М.А.^а, Польшаков В.И.^а, Донцова О.А.^{а,б}, Сергиев П.В.^{а,б}

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: sofia.mariasina@yandex.ru

^б Центр молекулярной и клеточной биологии Сколковского института науки и технологий, Большой бульвар. 30, Сколково, Московская область

Белок THUMP2 — метилтрансфераза, катализирующая внесение модификации m²G72 в ключевой компонент сплайсосомы — мяРНК U6. Эта модификация играет важную роль в эффективности сплайсинга пре-мРНК в клетках мыши и человека.

Как и большинство других метилтрансфераз, белок THUMP2 использует для метилирования молекулу S-аденозил-L-метионина (SAM). Помимо SAM, THUMP2 взаимодействует со вспомогательным белком TRMT112, который, по-видимому, необходим для его метилтрансферазной активности.

В рамках исследования мы выявили ключевые аминокислотные остатки метилтрансферазы THUMP2, ответственные за взаимодействие с кофактором SAM и вспомогательным белком TRMT112.

На первом этапе с использованием методов молекулярной динамики в программном пакете GROMACS выполнены длительные (200 нс) симуляции нативной структуры белка и его мутантных форм. Анализ траектории молекулярной динамики позволил идентифицировать 3 критических остатка (T311, D329 и S357), важных для удержания SAM в активном центре метилтрансферазы. Также изучены особенности связывания THUMP2 со вспомогательным белком TRMT112, выявившие ключевую роль остатка D374 в формировании гетеродимера.

Экспериментальная валидация включала сайт-направленный мутагенез ключевых остатков с последующей экспрессией мутантных вариантов THUMP2 в культуре клеток мыши. Масс-

спектрометрическая оценка метилтрансферазной активности продемонстрировала снижение эффективности метилирования U6 snRNA при точечных заменах.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проекты 24-14-00081 и 24-74-00052.

РОЛЬ ГЕНА SFRP4 В МЕХАНИЗМАХ РАЗВИТИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Мелехин В.В.^{а,б}, Тохтуева М.Д.^а, Колесова Е.С.^а, Вишняков Д.И.^а, Парамонова А.В.^а, Андреева Е.И.^а

^а Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Россия, 620062, Екатеринбург, Мира, д. 19.
электронная почта: v.v.melekhin@urfu.ru

^б Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Россия, 620028, Екатеринбург, Репина, д. 3.

Экспрессия SFRP4 (secreted frizzled-related protein 4) наблюдается во многих тканях организма. Данный белок содержит богатый цистеином домен, гомологичный участкам белков семейства Wnt. Предполагается, что SFRP4, связываясь с Wnt, подавляет активность ассоциированных с G-белками рецепторов Fz и тем самым оказывает влияние на канонический и неканонический сигнальный путь Wnt¹, который играет значительную роль в механизмах реализации функций стволовых клеток и канцерогенеза². При этом отмечается тенденция к повышению активности Wnt-зависимых сигнальных механизмов при онкопатологии.

Между тем, закономерное предположение об ингибирующем влиянии SFRP4 на развитие неоплазии посредством модулирования Wnt, не находит своего подтверждения. Более того, отмечается взаимосвязь повышенной экспрессии SFRP4 с более агрессивным течением злокачественных новообразований (ЗНО) предстательной железы, негативным прогнозом и повышенным риском рецидивирования³.

С целью формирования гипотезы, объясняющей выявленные особенности действия SFRP4 на ЗНО предстательной железы проведен биоинформатический анализ. Использована открытая база данных TCGA-PRAD. С применением языка программирования R (версия 4.3.2) проанализирован транскриптом 502 образцов опухолевой и 52 здоровой ткани. Выявлено повышение экспрессии SFRP4 в опухолевой ткани относительно здоровой ($p < 0.001$). Проведено сравнение транскриптома образцов с высокой и низкой экспрессией SFRP4. Кроме того, оценена корреляция экспрессии SFRP4 с экспрессией других генов. Проведенный анализ позволил предположить роль SFRP4 в механизмах канцерогенеза при ЗНО предстательной железы.

Литература

1. Ford C.E., et al. *PloS one* 8.1, 2019, e54362.
2. Zhan, T., et al. *Oncogene*, 2017, 36(11), 1461-1473.
3. Sandsmark E. et al. *Scientific Reports*, 2017, 7(1), 14276.

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЧЕЛОВЕКА HT-29 ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ ИНКУБАЦИИ С БИСФЕНОЛОМ А

Мирошниченко Е.А.^{а,б}, Диатроптова М.А.^а, Алексеева А.И.^а, Герасимов А.Д.^б, Косырева А.М.^{а,б}

^а НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», Москва, 117418, Цюрупы, 3

^б НИИ молекулярной и клеточной медицины Российского университета дружбы народов им. Патриса Лумумбы (РУДН), Москва, 115093, Подольское ш., 8

Колоректальный рак (КРР) занимает второе место по смертности от рака во всем мире¹. Рост числа пациентов с КРР может быть связан в том числе с повсеместной распространенностью ксеноэстрогена бисфенола А (BPA). Потребление BPA может приводить к гормональной дисфункции и способствовать развитию опухолей в эстроген-зависимых органах². Также BPA оказывает негативное влияние на эпителий толстой кишки, у пациентов с КРР наблюдается высокий уровень BPA в крови³. Целью нашего исследования было оценить влияние на клетки культуры аденокарциномы толстой

кишки человека HT-29 ВРА в концентрациях 5, 25 и 50 мкМ при длительной инкубации в течение 96 ч. Для этого путем построения кривых роста оценивали пролиферативную активность клеток HT-29, с помощью МТТ-теста определяли цитотоксичность и методом ПЦР-РТ проводили исследование экспрессии мРНК генов *PIK3CA*, *NF-κB p65*, *VEGFA*, *ESR1*, *HIF-1α*, *PTEN*, *TP53*, *CD44* и *CDH1*. По результатам МТТ-теста концентрация 50 мкМ была цитотоксичной, но не изменяла пролиферативной активности клеток. Согласно данным ПЦР-РТ концентрация 25 мкМ вызывала наиболее выраженные молекулярно-биологические эффекты с повышением экспрессии мРНК генов *PIK3CA*, *ESR1*, *HIF-1* и снижением *VEGFA*, *CD44*. Инкубация клеток с 5 мкМ ВРА снижала экспрессию мРНК *VEGFA* и повышала *HIF-1α*, а в случае 50 мкМ ВРА повышалась только экспрессия мРНК *ESR1*. Таким образом, длительная инкубация культуры клеток HT-29 с ВРА в концентрации 25 мкМ приводит к изменению экспрессии генов, ответственных за прогрессию и инвазию опухолей.

Литература

1. Sung H., et al., *CA: a cancer journal for clinicians* 2021, 3, 209-249.
2. Xing J., et al., *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology: CBP* 2022, 254, 109275.
3. Xia T., et al., *Frontiers in Endocrinology* 2022, 13, 933051.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (государственное задание 123030700107-4).

РАЗРАБОТКА ПРОГРАММНОГО ПАКЕТА ДЛЯ АННОТАЦИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОМОВ

Михайлычева М.В.^{а,б}, Горбачев А.Ю.^б

^аМосковский физико-технический институт, Россия, 141701, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок, д. 9

^бФедеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального Медико-биологического Агентства, Россия, Москва, 119435, Малая Пироговская, д.1а

На данный момент существует множество программ для структурной и функциональной аннотации, с различными реализациями и объектами применения. В частности, для прокариотических геномов активно используются инструменты Prokka, Bakta, PGAP и другие.

При проведении сравнительного анализа группы родственных образцов, например, изолятов бактерий кишечной микробиоты человека, для улучшения качества результатов важно использовать аннотации, которые обладают свойством консистентности – когда одна и та же белковая последовательность верно распознана в каждом образце и имеет одинаковое название. Однако при использовании существующих программ-аннотаторов одним и тем же генам могут быть присвоены как совершенно разные идентификаторы, так и разные синонимы одного и того же идентификатора.

Для решения этой проблемы в рамках данного исследования был разработан инструмент на языке программирования Python для работы с данными высокопроизводительного секвенирования и геномными сборками, который позволяет получить наиболее полную и единообразную аннотацию для группы однородных образцов бактерий. В качестве основы был использован аннотатор Bakta¹. Для валидации результатов в работе использовались данные полногеномного секвенирования, транскриптомов и протеомов изолятов *E. coli*, полученных у пациентов с болезнью Крона, и лабораторного штамма *E. coli* MG1655, а также набор полных сборок *E. coli*, представленных в базе данных NCBI.

Литература

1. O. Schwengers et al., *Microbial Genomics*, 2021, v. 7, i. 11.

МЕХАНИЗМЫ РАБОТЫ НОВОЙ ГРУППЫ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БЕЛКОВ PIWI В СИСТЕМАХ *IN VITRO*

Михалицына М.А.^а, Лисицкая Л.А.^б, Кульбачинский А.В.^б, Гельфенбейн Д.М.^б

^а Институт биологии гена РАН, Россия, 119334, Москва, улица Вавилова, д. 34/5
электронная почта: mihalicyna.mariya@mail.ru

^б Институт биологии гена РАН, Россия, 119334, Москва, улица Вавилова, д. 34/5

Белки-аргонавты участвуют в РНК-интерференции у эукариот, регулируя экспрессию генов и защищая клетки от чужеродных генетических элементов посредством распознавания РНК-мишени, будучи загруженными короткими РНК-гидами. У некоторых прокариот также имеются белки-аргонавты, гораздо более разнообразные по структурным и функциональным особенностям в сравнении с эукариотическими гомологами. Прокариотические белки-аргонавты имеют большое разнообразие предпочтений к гидам и мишеням: ДНК-ДНК, ДНК-РНК, РНК-ДНК. Полноразмерные белки-аргонавты включают домены N, PAZ, MID и PIWI. В PIWI-домене находится активный центр белка, позволяющий расщеплять комплементарную гиду мишень. Недавно была найдена новая группа аргонавт-подобных PIWI-белков, которая характеризуется необычным строением PIWI-домена, а также уникальным N-концевым доменом. В данной группе белков предсказаны как белки с активным центром, так и без него. В литературе практически отсутствуют сведения о свойствах белков данной группы. В нашей работе мы исследовали свойства новых бактериальных PIWI-белков *in vitro*.

С помощью биоинформатического анализа были выбраны два белка PIWI, один из которых предположительно имеет каталитическую активность, а второй не способен расщеплять мишень. В рамках работы были получены генетические конструкции, содержащие гены выбранных белков под контролем индуцибельного промотора. Были подобраны условия экспрессии и выделения данных белков. Полученные очищенные белковые препараты были использованы для изучения активности PIWI-белков *in vitro*. Оказалось, что оба белка хорошо связывают короткие ДНК-гиды, и гораздо хуже — короткие РНК. В экспериментах по разрезанию мишени у исследуемых белков не было найдено нуклеазной активности. Для понимания механизма работы этих белков в клетках бактерий планируется дальнейшее изучение их свойств *in vitro* и *in vivo*.

БИОФИЗИЧЕСКИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ТЕСТЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ АКТИВНОСТИ GPCR РЕЦЕПТОРОВ

Мишин А.В., Моисеева О.В., Дашевский Д.Е., Садова А.П., Лугинина А.П., Хорн П.А., Борщевский В.И.

Центр исследований молекулярных механизмов старения и возрастных заболеваний,
Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет),
Россия, 141701 Долгопрудный, Институтский пер., 9
электронная почта: mishinalexej@gmail.com

Рецепторы, сопряжённые с G-белком (GPCR), — это белки, имеющие семь трансмембранных спиралей, которые образуют наиболее распространенное семейство в протеоме человека и составляют один из крупнейших классов мембранных белков. В ответ на присоединение внеклеточных молекул они активируют различные пути передачи сигнала и тем самым вызывают различные типы клеточного ответа. GPCR играют первостепенную роль во многих важных физиологических функциях в организме человека, таких как зрение, восприятие вкуса, запаха, регуляция деятельности нервной, иммунной и сердечно-сосудистой систем, поддержание гомеостаза и необходимой плотности клеток в ткани. Таким образом, их дисфункции приводят к серьезным заболеваниям. GPCR представляют собой важнейшие мишени в фундаментальных и прикладных медицинских и фармацевтических исследованиях. До 40% современных лекарственных средств действуют именно на GPCR рецепторы.

Структурно-функциональные исследования GPCR рецепторов, помимо решения структуры, включают в себя использование палитры биофизических функциональных тестов, как клеточных, так и *in vitro* на выделенном стабилизированном белке, которые позволяют провести комплементарный анализ SAR (structure-activity relationship, определение связи структура-функция). Данный анализ используется для валидации структуры, подтверждения особенностей молекулярного механизма функционирования рецептора, определения эффективности лигандов разных типов — ортостерических агонистов, антагонистов и обратных агонистов, аллостерических модуляторов и biased лигандов. Целью нашего

исследования является создание и оптимизация методов биофизического анализа взаимодействия рецепторов класса GPCR с их лигандами, применение их к нескольким конкретным фармакологическим мишеням и установление молекулярных механизмов их активации.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 22-74-10036.

АНТИ-EGFR АПТАМЕРЫ ДЛЯ ТЕРАНОСТИКИ ГЛИБЛАСТОМ

Моисеенко В.Л.^{а,б}, Антипова О.М.^{а,б}, Иванов Б.М.^а, Дзаријева Ф.М.^в,
Самойленкова Н.С.^б, Пронин И.Н.^б, Павлова Г.В.^{б,в}, Копылов А.М.^{а,б}

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: valerian.moiseenko@gmail.com

^б НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко, Россия, 125047, Москва, 4-я Тверская-Ямская ул., 16

^в Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Россия, 117485, Москва, ул. Бултерова, 5А

Анти-EGFR аптамеры. РНК: 2'-F-замещенные по пиримидиновым нуклеотидам (2'FY-) ME07 и CL4, и ДНК: U2, U31, оригинальные авторские Gol1 и GR20. Проточной цитометрией показано взаимодействие флуоресцентных производных анти-EGFR аптамеров со стандартными линейными клетками и перевиваемыми культурами клеток ГБ пациентов: Sus, G01, 90, 107, имеющими различный уровень экспрессии мРНК EGFR. Методом интерферометрии биослоев определена аффинность аптамеров к рекомбинантному внеклеточному домену EGFR. Создана оригинальная аптамерная нековалентная конструкция с комплементарным олигонуклеотидом (АККО), которая сохраняет аффинность к EGFR+ клеткам, включая клетки культуры опухоли пациентов. Противоопухольевый агент доксорубин (ДОКСО) способен интеркалировать в конструкцию АККО аптамера GR20 и изменять кинетику доставки ДОКСО в клетки культуры опухоли пациентов, что открывает возможности разработки вариантов аптамеров для доставки противоопухольевых препаратов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение 075-15-2024-561.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ НОВЫХ СЕРНЫХ БАКТЕРИЙ СЕМЕЙСТВ *BEGGIATOACEAE* И *THIOTRICHACEAE*

Мунтян М.С.^а, Руденко Т.С.^б, Равин Н.В.^в, Грабович М.Ю.^б

^а НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40, muntyan@genebee.msu.ru

^б Воронежский государственный университет, Медико-биологический факультет, Россия, 394018, Воронеж, Университетская пл., д. 1

^в Институт биоинженерии ФИЦ биотехнологии РАН, 119071, Москва, Ленинский проспект, 33-2

Метагеномный подход использован для исследования метаболического потенциала нитчатых сероокисляющих бактерий семейств *Beggiatoaceae* и *Thiotrichaceae*, большинство из которых являются некультивируемыми и неописанными. Новый род и новый вид семейства *Beggiatoaceae*, '*Ca. Albibeggiatoa psychrophila*' gen. nov., sp. nov. идентифицирован на базе метагеномов серных матов Белого моря¹, что позволило расширить представление о центральных путях углеродного, серного и азотного метаболизма в семействе *Beggiatoaceae*. В водных течениях представители нитчатых сероокисляющих бактерий морфотипа *Thiothrix* образуют обрастания, служащие эффективными сульфидными биофильтрами и предохраняющие фауну от интоксикации. Идентифицированы два новых вида семейства *Thiotrichaceae*, '*Ca. Thiothrix putei*' sp. nov. GKL-02 и '*Ca. Thiocaldithrix dubininis*' gen. nov., sp. nov. GKL-01, последний из которых представляет новый род². Обнаружено: представители семейства располагают гибким метаболическим аппаратом, что указывает на широкие приспособительные возможности бактерий. Интригующим оказалось наличие у представителей семейства элементов двух типов энергетике, натриевой и водородной: Na⁺- и H⁺-перекачивающих мембранных АТФаз и пиррофосфатаз. Предполагается функционирование у их обладателей натриевого и протонного циклов, усиливающих приспособительные свойства видов и их устойчивость в системах очистки сточных вод³.

Литература

1. Ravin NV, et al., *Int. J. Mol. Sci.*, 2024, 25(11):6028.
2. Ravin NV, et al., *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, 24(18):14199.
3. Gureeva MV, et al., *Int. J. Mol. Sci.*, 2024, 25(16):9093.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 20-14-00137.

АНАЛИЗ ГЕТЕРОПЛАЗМИИ мтДНК НА ОСНОВЕ ДАННЫХ NGS

Муравьев Г.С.^а, Кашко Н.Д.^б, Кнорре Д.А.^б

^а *Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: turgeo13@gmail.com*

^б *НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1*

Состояние, когда в одной эукариотической клетке присутствует несколько вариантов мтДНК с разной нуклеотидной последовательностью, называется гетероплазмией. С митохондриальной гетероплазмией сопряжено большое число генетических заболеваний человека. Поэтому изучение закономерностей наследования мтДНК в череде поколений клеток и многоклеточных организмов представляет общий и прикладной интерес. Обычно за счёт случайного дрейфа генов через несколько поколений в каждой клетке остается только какой-то один вариант мтДНК (состояние гомоплазии). Однако для некоторых организмов описаны случаи стабильной гетероплазии, сохраняющейся в течение многих поколений. Нами был разработан программный конвейер, анализирующий информацию о несогласующихся парных чтениях (discordant paired-end reads) из данных полногеномного секвенирования дрожжей. С его помощью было показано наличие вторичных делеций в митохондриальных геномах нашей коллекции мутантных rho- штаммов (имеющих первичные делеции мтДНК), а также в rho+ штамме дикого типа. Стоит отметить, что среди находок оказались варианты, совпадающие с координатами первичных делеций других штаммов. Также, используя результаты секвенирования rho0 штаммов (утративших мтДНК), мы показали отсутствие в наших штаммах митохондриально-ядерных псевдогенов (NUMTs). Полученные результаты свидетельствуют о том, что в штаммах дрожжей присутствуют варианты мтДНК со сходными координатами делеций. Это возможно, если высока вероятность подобных делеций или если rho- мтДНК с такими делециями способны сохраняться длительное время в клетках в состоянии гетероплазии за счет преимущества в скорости репликации внутри клетки.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 22-14-00108.

РОЛЬ РЕЦЕПТОРА ДЛЯ КОНЕЧНЫХ ПРОДУКТОВ ГЛИКИРОВАНИЯ (RAGE) В АКТИВАЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ. ИММУНОМОДУЛЯТОРНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ АНТИ-RAGE АПТАМЕРОВ

Наварнова С.В., Вирясова Г.М., Голенкина Е.А.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: navarnova.soffia@gmail.com

Полилигандный рецептор RAGE является важным компонентом врожденного и адаптивного иммунитета. Взаимодействие конечных продуктов гликирования с RAGE задействовано в патогенезе осложнений сахарного диабета и в механизмах старения. Экспрессия RAGE показана для клеток различных тканей, в том числе, для нейтрофильных гранулоцитов. Мы исследовали роль RAGE-опосредованного сигналинга в активации нейтрофилов при их взаимодействии с бактериями и продуктами бактериальной и клеточной деградации. Было показано, что рецептор RAGE вовлечен в стимуляцию образования оксида азота и реализацию прооксидантного действия микроорганизмов и фрагментов нуклеиновых кислот, а также задействован в контроле продолжительности жизни нейтрофилов.

На лабораторных животных было продемонстрировано, что синтетические олигонуклеотидные

аптамеры, селективно взаимодействующие с белком RAGE, препятствуют развитию диабетических нефропатий^{1,2}. Используя описанные в литературе структуры #1 RAGE-Apt¹ и #2 RAGE-Apt², мы показали, что анти-RAGE аптамеры дозозависимым образом стимулируют синтазу оксида азота и NADPH-оксидазу нейтрофилов. Вместе с тем, выявлен антагонистический эффект #1 RAGE-Apt в отношении олигонуклеотидов, содержащих локусы (TTAGGG)₄, которые образуют комплексы с лигандом RAGE, белком HMGB1.

Литература

1. Matsui T., et al., *Diabetes* 2017; 66 (6), 1683–1695.
2. Taguchi K., et al., *Sci Rep* 2018; 8, 2686.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-74-01056.

РОЛЬ УБИКВИТИНИЛИГАЗНОГО МОДУЛЯ MSL2 В РЕГУЛЯЦИИ КОМПЛЕКСА ДОЗОВОЙ КОМПЕНСАЦИИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Немиц Е.А., Тихонова Е.А., Бабоша В.А., Максименко О.Г., Георгиев П.Г.

Институт биологии гена РАН, 119334, Москва, Вавилова, 34/5.

MSL-комплекс (*Male-Specific Lethal*) обеспечивает дозовую компенсацию у *Drosophila melanogaster*, гиперацетилируя гистоны на X-хромосоме самцов и повышая уровень их транскрипции. Основные компоненты комплекса – белки MSL1, MSL2, MSL3, MOF и RNA-компонент roX1 и roX2. MSL2 обладает RING-доменом, который играет ключевую роль в его убиквитинлигазной активности и также отвечает за связывание с MSL1.

В нашей работе исследуется убиквитинлигазный модуль в составе MSL2. Мы провели мутации в его RING-домене (H73A L74A и F75A F76A), что, предположительно, привело к потере убиквитинлигазной функции. Сохранение связываемости с MSL1 подтверждено экспериментально, а потеря активности выявлена косвенно: по данным вестерн-блоттинга концентрация белка возрастает по сравнению с MSL2^{wt}.

Дополнительно были внесены мутации K715A, K716A в Basic-домене MSL2, что нарушает предполагаемые сайты аутоубиквитинирования и приводит к резкому увеличению уровня белка. Мутации также исследованы на фоне нуль-мутации MSL1, что подтверждает их эффект. Для анализа проведены препараты политенных хромосом и дополнительные вестерн-блоты.

Полученные данные уточняют механизмы регуляции MSL-комплекса и его убиквитинирования в процессах дозовой компенсации у дрозофилы.

Литература

1. Babosha V., et al., *eLife* 2024, 13, RP93241.
2. Copps K., et al., *EMBO J.* 1998, 17, 5409-5417.
3. Lucchesi J. C., et al., *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2015, 7, a019398.
4. Lucchesi J. C., et al., *Annu. Rev. Genet.* 2015, 49, 183-206.
5. Villa R., et al., *Mol. Cell* 2012, 48, 147-159.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проекты 21-14-00211, 24-14-00331.

НОВЫЙ МАРКЕР СЕЛЕКТИВНОСТИ – ПЕНТАЛЕНОЛАКТОН

Никандрова А.А.^{а,б}, Петрякова А.Д.^б, Иззи А.Р.^{а,б}, Петросян Г.А.^б,
Ташлицкий В.Н.^б, Алферова В.А.^{б,в}, Панова Т.В.^б, Хренова М.Г.^{б,г}, Бирюков М.В.^{б,д},
Закалюкина Ю.В.^б, Зверева М.И.^б, Лукьянов Д.А.^{а,б}, Сергиев П.В.^{а,б}

^а Центр молекулярной и клеточной биологии Сколковского института науки и технологий,
Россия, 143026, Сколково, Москва, Большой бульвар. 30,
электронная почта: d.lukianov@skoltech.ru

^б Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,

^в Институт биоорганической химии им. Шемякина-Овчинникова Российской академии наук,
Россия, 117997 Москва, Миклухо-Маклая, 16/10,

^г Институт биохимии им. Баха, Федеральный исследовательский центр «Основы биотехнологии» Российской академии наук,
Россия, 119071 Москва, Ленинский пр-т., 33 стр.2,

^д Центр трансляционной медицины, Университет науки и технологий «Сирiuс»,
Россия, 354340, Сочи, Олимпийский пр., д. 1.

Антибиотикорезистентность представляет собой серьезную проблему, остро стоящую перед современным обществом. Одним из ключевых направлений борьбы с ней является изучение механизмов действия антибиотиков и поиск новых антимикробных соединений, в том числе из филлума *Actinomycetota*. Особый интерес вызывают штаммы актинобактерий, выделенные из малоизученных местообитаний, где конкуренция за ресурсы стимулирует синтез уникальных соединений. Не менее важным, так же является и исследование патогенных штаммов, для чего могут быть необходимы новые маркеры селективности.

В ходе работы был изучен штамм *Streptomyces* sp. AP22, выделенный из почв Ахшатырского ущелья. Были проведены фенотипические и морфологические исследования, а также анализ его биологической активности. В ходе исследования было идентифицировано соединение, обладающее антибиотической активностью — пенталенолактон. Это соединение является ингибитором глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (GAPDH), ключевого фермента гликолиза.

Далее, была обнаружена ранее неизвестная мутация в гене *garA*, кодирующем GAPDH, обеспечивающая устойчивость к пенталенолактону. Важным аспектом является тот факт, что пенталенолактон не используется в клинической практике, что снижает риск развития резистентности к медицински значимым антибиотикам. Кроме того, была разработана генетическая конструкция с мутантным геном *garA*, предложенная в качестве нового селективного маркера для молекулярно-генетических исследований.

Полученные данные демонстрируют потенциал использования пенталенолактона в качестве маркера селективности, в генетических исследованиях. Разработанный подход может быть полезен при изучении штаммов, устойчивых к традиционным селективным маркерам, таким как, например, канамицин и ампициллин.

Данное исследование было профинансировано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации, проект 075-15-2024-630.

ИЗУЧЕНИЕ ПУТЕЙ РЕПАРАЦИИ, ОТВЕЧАЮЩИХ ЗА ОБРАЗОВАНИЕ ХРОМОСОМНОЙ ТРАНСЛОКАЦИИ *AML1-ETO*

Николаев Н.А.^{а,б}, Вьюшков В.С.^а, Ломов Н.А.^а

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра молекулярной биологии,
Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12
электронная почта: nnikolaev@fbb.msu.ru

^б Институт биоорганической химии им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117437, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10.

Хромосомная транслокация t(8;21), затрагивающая гены *AML1* и *ETO*, приводит к образованию химерного онкогена *AML1-ETO*. Эта перестройка характерна для острых лейкозов, в том числе индуцированных терапией. Транслокации образуются вследствие ошибок сшивания фрагментов хромосом системами репарации двуцепочечных разрывов ДНК: негомологичного соединения концов (Non-Homologous End Joining, NHEJ) или репарации, опосредованной микрогомологией (Microhomology-Mediated End Joining, MMEJ). Для изучения репарации ДНК необходимо вносить раз-

рывы в целевые локусы и затем дифференцировать пути репарации по их следам: для NHEJ — по коротким инсерциям или делециям, для MMEJ — по делециям микрогомологий (коротких идентичных участков по разные стороны от разрыва).

Чтобы получить множество событий репарации разрывов ДНК в генах *AML1* и *ETO*, в том числе транслокаций, мы использовали клеточную культуру лимфобластов iAML-ETO, ранее полученную в нашей лаборатории. В ее геноме интегрированы элементы индуцируемой системы CRISPR/Cas9, нацеленные на гены *AML1* и *ETO*¹. После индукции системы мы выделяли ДНК и амплифицировали как точки перестройки, так и неперестроенные целевые локусы в генах *AML1* и *ETO*. Ампликоны секвенировали на платформе Illumina и выявляли следы репарации. Мы обнаружили, что при образовании транслокаций с концов разрывов удаляется больше нуклеотидов и чаще делетируются микрогомологии. Это говорит о том, что путь MMEJ чаще задействован при образовании транслокации *AML1-ETO*, чем при корректном соединении концов разрывов.

Литература

1. Shmakova A., Lomov N., Viushkov V., et al., *Cancer Communications* 2023, 43(1), 154-158.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-24-20019.

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ПРОЦЕССЕ ПОЛНОГО ПРЕВРАЩЕНИЯ У ДВУХ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИ УДАЛЁННЫХ ВИДОВ *DROSOPHILA*

Озерова А.М., Гельфанд М.С.

Центр молекулярной и клеточной биологии Сколковского института науки и технологий,
Большой бульвар, 30, Сколково, Московская область, 143025, Россия,

Полное превращение у насекомых представляет собой сложный биологический процесс, характеризующийся глубокими морфологическими, физиологическими и транскрипционными изменениями. Для изучения динамики экспрессии генов в ходе этого критически важного этапа развития был проведен детальный анализ транскриптомов на разных стадиях развития двух видов: *Drosophila melanogaster* и *Drosophila virilis*.

Мы подтвердили частичное воспроизведение эмбриональной транскрипционной программы у куколок¹. Однако вместо традиционной модели «песочных часов», предполагающей максимальную консервативность экспрессии на средних эмбриональных стадиях, в развитии куколки мы наблюдаем более сложную картину чередования низкого и высокого уровня разнообразия. Этот процесс напоминает обращенную модель «песочных часов», или «веретено».

Также примечательно, что недавно возникшие гены, специфичные для насекомых, демонстрируют ярко выраженные пики экспрессии на средних стадиях развития куколки. Это указывает на их вероятную роль в регуляции переходов между различными фазами развития.

Литература

1. Ozerova AM, Gelfand MS, *Scientific Reports* 2022, 12 (1): 17570.

POTENTIAL ROLE OF RNA AND DNA ADENINE METHYLATION IN R-LOOPS REGULATION IN *E. COLI*

Олейникова Е.Ю.^{а, б, *}, Рузов А.С.^а, Жигалова Н.А.^а

^а Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской Академии Наук

^б Центр ИнфоХимии, ИТМО.

* rusnlkaterina@icloud.com

N6-methyladenosine (m6A) is RNA modification that contributes to a number of different aspects of mes-

senger RNA (mRNA) metabolism in eukaryotes. Several recent studies suggest that in mammals m6A is involved in regulation of R-loops, three-stranded nucleic acid structures composed of an RNA:DNA hybrid and a displaced single-stranded DNA, that represent a major source of genomic instability in living cells.

Recently, it was shown that m6A is present on RNA:DNA hybrids in eukaryotes and that this modification can regulate the stability of RNA:DNA hybrids¹. Corresponding studies on prokaryotes have not yet been conducted, so the following questions were posed in this study: is m6A modification present on RNA:DNA hybrids in prokaryotes; if so, is the role of m6A in regulating stability of RNA:DNA hybrids conserved between eukaryotes and prokaryotes. Since prokaryotic genomes also possess a DNA analogue of m6A (N6-methyldeoxyadenosine, 6mA) in their genomes, in this work, we likewise aimed to understand how 6mA modification on DNA affects R-loop metabolism in bacteria.

To answer these questions, we have identified both RNA m6A and DNA 6mA modifications and DNA:RNA hybrids based on DNA immunoprecipitation sequencing (DIP-seq) and DNA-RNA immunoprecipitation sequencing (DRIP-seq) techniques that were carried out in *E. coli*.

In this study, we show that RNA m6A is present on RNA:DNA hybrids in *E. coli*. Moreover, a subset of R-loops localised mainly in promoter regions overlaps with loci highly enriched with RNA m6A and DNA 6mA in this bacterium. Furthermore, we demonstrate that the depletion of *Dam*- dependent DNA adenine methylation in *E. coli* leads to a decrease in the number of R-loop peaks associated with disappearance of this modification from corresponding genomic regions.

Collectively, our data imply that both RNA m6A and DNA 6mA are likely involved in the R-loop biogenesis in prokaryotes. Our results also suggest that DNA 6mA and RNA:DNA hybrids may play functional roles in regulation of transcription of at least some genes in *E. coli*. We hypothesize that DNA destabilization with methyladenine may be necessary for efficient transcription and, at the same time, may lead to the formation of R-loops in bacteria.

Literature

1. Abakir, A., Giles, T. C., Cristini, A., Foster, J. M., Dai, N., Starczak, M., ... & Ruzov, A. (2020). N 6-methyladenosine regulates the stability of RNA: DNA hybrids in human cells. *Nature genetics*, 52(1), 48-55.

DEVELOPMENT OF NOVEL RECOMBINANT ADENO-ASSOCIATED VIRUS (RAAV) AS A PLATFORM FOR GENE THERAPY

Oloruntimehin, S.E.^a, Malogolovkin, A.^{a,b}

^aLaboratory of Molecular Virology, First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow 119435, Russia.

^bCenter for Translational Medicine, Sirius University of Science and Technology, Sochi 354530, Russia.
Email: olorunsolaezek@phystech.edu

Recombinant adeno-associated viruses (rAAVs) have emerged as important tools in gene therapy for genetic diseases. Despite their growing relevance, these vectors face enormous challenges in their use due to their limited payload capacity, off-target, and immune attack post injection. Hence, there is need to develop recombinant vectors with novel 'arsenals' that will help them evade immune attack. Several approaches have been employed to improve the efficiency of AAV vectors. At the Laboratory of Molecular Virology, Sechenov University, we are developing novel recombinant AAV2-based vectors that would be immune-resistant with improved transduction efficiency. Following a thorough in silico analysis of AAV2 and closely-related human parvovirus B19, the recombinant vectors were designed with new materials from human Parvovirus B19. These 'new' loops will enhance the transduction efficiency of the vectors, and ability to target new tissues.

Beyond their ability to evade immune attacks, these new vectors will provide opportunities for researchers to reconsider patients who could not benefit from some specific gene therapy due to the presence of AAV-specific neutralizing antibodies. In the future, these vectors will be assessed on several cell types and their ability to target other genetic diseases that previously have not been tested using AAVs.

Literature

1. Chhabra, et al., *Molecular Therapy – Methods & Clinical Development* 2024, 32, 101273

- Schulz, et al., *Molecular Therapy* 2023, 31, 616-630.
- Earley, et al., *Trends in Biotechnology* 2023, 41, 836-845.

The study was supported by the Academic Leadership Program Priority 2030 by the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov, First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University).

БЕЛОК SLIRP РЕГУЛИРУЕТ БИОСИНТЕЗ СУБЪЕДИНИЦ ЦИТОХРОМ-С-ОКСИДАЗЫ В ЛИНИИ КЛЕТОК HEK293T

Пиунова У.Е., Балева М.В., Чичерин И.В., Васильев Р.А., Левицкий С.А., Каменский П.А.

^аМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: ulya.ulichka@gmail.com

Регуляция митохондриальной трансляции является чрезвычайно важным процессом, осуществляющим координацию биосинтеза митохондриальных белков в матриксе органелл и цитозоле. В рамках представляемой работы была исследована роль белка SLIRP в инициации трансляции в митохондриях линии клеток человека HEK293T. SLIRP — РНК-связывающий белок, более 90% которого находится в митохондриях¹. Известно, что SLIRP образует комплекс с белком LRPPRC, стабилизирующий митохондриальную мРНК², а также взаимодействует с митохондриальной рибосомой³.

Мы получили линию клеток HEK293T с делецией в гене SLIRP и подтвердили отсутствие полноразмерного белка с помощью иммуноблоттинга.

Обнаружено, что отсутствие SLIRP приводит к уменьшению продукции АТФ, значительному снижению митохондриального дыхания и нефункциональности IV комплекса ЭТЦ. Методами Blue Native и иммуноблоттинга выявлено уменьшение количества IV комплекса, а также количества и активности I комплекса. Оценка трансляции *in vivo* показала, что снижение количества комплексов ЭТЦ обусловлено снижением эффективности синтеза их митохондриально-кодируемых субъединиц. Также мы продемонстрировали, что SLIRP взаимодействует непосредственно с малыми субъединицами митохондриальных рибосом, при этом не влияя на эффективность их сборки.

Исходя из полученных данных, SLIRP мРНК-специфично координирует поступление определенных мРНК во входной туннель малой субъединицы митохондриальной рибосомы, осуществляя таким образом тонкую регуляцию инициации трансляции.

Литература

- Hatchell, Esmé C., et al., *Mol Cell*. 2006, 22, 657-668.
- Chujo, Takeshi., et al., *Nucleic Acids Res*. 2012, 16, 8033-8047.
- Singh, Vivek., et al., *Nat Struct Mol Biol*. 2024, 31, 1838-1847.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФ, проект 21-14-00008, и государственного задания Правительства РФ, тема 24-2-21.

АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМА Т-КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ПРОГЕРИЕЙ

Плетенева Д.А.^а, Кунгурцева А.Л.^б, Шелякин П.В.^{в,г}, Староверов Д.Б.^а, Шагина И.А.^{а,в}, Мерзляк Е.М.^{а,в}, Мышкин М.Ю.^а, Витебская А.В.^б, Британова О.В.^{а,в,г}

^аИнститут биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Россия, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, электронная почта: andrussyak.darja@yandex.ru

^бПервый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

^вИнститут трансляционной медицины Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова, 117513, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1, стр. 1.

^гЦентр стволовых клеток Абу-Даби, ул. Махдар Кутуф, Роудхат, Абу-Даби, 4600, ОАЭ.

Прогерия (синдром Хатчинсона – Гилфорда, HGPS) – редкое генетическое заболевание, которое проявляется преждевременным старением. HGPS развивается в результате мутации в гене LMNA, которая приводит к синтезу укороченной формы ламина А – прогерина¹. Накопление прогерина нарушает организацию хроматина и экспрессию многих генов. Исследования иммунной системы при HGPS в основном проводились на мышинных моделях с нокаутом гена *Lmna*². Такие модели недостаточно точно отражают процессы, происходящие в иммунных клетках пациентов, поскольку у мышей не происходит накопление прогерина.

Данная работа посвящена изучению Т-клеточного иммунитета пациентов с HGPS с использованием методов проточной цитометрии и анализа транскриптома единичных Т-лимфоцитов периферической крови. Мы не выявили у пациентов с HGPS многих характерных для физиологического старения черт. Однако было обнаружено, что при HGPS изменяется экспрессия генов, ассоциированных с сигнальными путями WNT, NF-κB и mTOR, что может влиять на процессы активации, пролиферации и дифференцировки Т-клеток.

Дальнейшее изучение системы адаптивного иммунитета у пациентов с HGPS позволит оценить применимость прогероидных моделей старения для исследования старения иммунной системы здоровых людей.

Литература

1. Eriksson M. et al., *Nature*. 2003, 423, 293–298.
2. Toribio-Fernández R. et al., *J. Pathol.* 2019, 249, 509–522.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 25-24-00627.

КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ HER2-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ РАКОВЫХ КЛЕТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИММУНОТОКСИНА DARP-LOPE И ПРОТИВОРАКОВЫХ ПРЕПАРАТОВ

Подoliaкo B.B.^а, Kотельникова П.А.^{б,в}, Деев С.М.^{б,в,г}

^а Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Москва

^б ГНЦ ИБХ РАН, Москва

^в ФИАН, Москва

^г НИЦ «Курчатовский институт», Москва

Сегодня онкологические заболевания остаются одной из наиболее серьезных угроз здоровью людей. Несмотря на успехи медицины, традиционные методы лечения, такие как химиотерапия, имеют ряд недостатков. К ним относятся неспецифическое воздействие на организм, приводящее к серьезным побочным эффектам, а также развитие устойчивости опухолей к лекарственным средствам, что снижает эффективность терапии. Поэтому ученые активно работают над новыми подходами к лечению рака.

Одним из таких подходов является использование иммунотоксина – рекомбинантных белков, состоящих из двух частей: токсической и адресной, которая избирательно связывается с раковыми клетками. Сегодня несколько препаратов на основе иммунотоксинов проходят клинические испытания. Кроме того, изучается возможность их сочетания с другими противораковыми средствами, чтобы повысить общую эффективность лечения.

DARP-LoPE представляет собой иммунотоксин, созданный на базе белка дарпин (DARPin_9-29), который нацелен на рецептор HER2, и низкоиммуногенного фрагмента псевдомонадного экзотоксина А (LoPE). Рецептор HER2 играет важную роль в развитии некоторых видов рака, его сверхэкспрессия часто наблюдается при раке молочной железы, яичников и ряда других опухолей.

В рамках нашего исследования был получен и очищен методом аффинной хроматографии рекомбинантный иммунотоксин DARP-LoPE. Мы также провели исследование совместного действия DARP-LoPE с химиотерапевтическими препаратами (паклитакселом и цисплатином) на культурах клеток карциномы молочной железы человека (BT-474) и карциномы яичников человека (SKOVip), которые

характеризуются повышенной экспрессией рецептора HER-2. Эти данные позволят определить оптимальные комбинации для лечения опухолей у пациентов и способствовать дальнейшему внедрению иммунотоксичных в клиническую практику.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации 075-15-2024-536.

ИССЛЕДОВАНИЕ КООРДИНАЦИОННОГО ОКРУЖЕНИЯ ИОНА ЦИНКА В АКТИВНОМ ЦЕНТРЕ ZMPSTE24 МЕТОДОМ QM/MM МЕТАДИНАМИКИ

Подшивалов Д.Д., Кирилин Е.М., Швядас В.К.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: david.podshivalov@belozersky.msu.ru

Цинк-зависимая мембранная металлопротеаза ZMPSTE24 участвует в созревании ламина А, мутации фермента приводят к ряду заболеваний (ламинопатий), поэтому изучение механизма действия и методов регуляции активности представляет интерес для медицины. Координация иона металла в активном центре Zn^{2+} -зависимых ферментов является важным элементом каталитического механизма¹. В случае ZMPSTE24 отсутствует структура с высоким разрешением и изучение координационной сферы иона цинка проводили с помощью моделирования. Мы получили модельную структуру комплекса фермента с аналогом природного субстрата — пятнадцатичленным С-концевым участком преламина А и с помощью QM/MM метадинамики² исследовали координационное число иона цинка в присутствии и в отсутствие субстрата. В обоих случаях использовали одинаковые коллективные переменные: координационное число между ионом цинком и остатком Glu336, а также координационное число между Zn^{2+} и атомами кислорода молекул воды в радиусе 8 Å. Моделирование показало, что в отсутствие субстрата, помимо остатков His335, His339 и Glu415, лигандами иона цинка могут быть одна или две молекулы воды, переход между состояниями практически не разделен энергетическим барьером. При наличии субстрата атом кислорода гидроксильной группы, разрывающей пептидную связь, становится лигандом иона цинка, к нему может быть добавлена молекула воды. Переключение между этими состояниями происходит через низкий энергетический барьер. Полученные данные позволили понять структурную организацию активного центра ZMPSTE24 и получить стартовую структуру для моделирования каталитических стадий ферментативной реакции.

Литература

1. Mikko Laitaoja, et al., *Inorganic Chemistry*. 2013, 52, 10983-10991.
2. Barducci A., et al., *Wiley Interdisciplinary Reviews: Comp. Mol. Science* 2011, 1, 826-843.

О ПРОБЛЕМЕ ОШИБОК ИДЕНТИФИКАЦИЙ В ПРОТЕОМНОМ АНАЛИЗЕ НА ОСНОВЕ ИНФОРМАЦИОННО-НЕЗАВИСИМОГО МЕТОДА

Помогаев Д.Д.^{а,б}, Горшков М.В.^б, Иванов М.В.^б

^аМосковский физико-технический институт (национальный исследовательский университет),
141700, Долгопрудный, Московская обл., Россия.

^бИнститут энергетических проблем химической физики им. В.Л. Тальрозе, Федеральный исследовательский центр химической физики им.
Н.Н. Семенова РАН; 119334, Москва, Россия;
электронная почта: mike.gorshkov@gmail.com

Информационно-независимый метод анализа протеомов на основе хроматомасс-спектрометрии (DIA) становится ключевым инструментом в протеомных исследованиях благодаря высокой чувствительности, воспроизводимости и производительности. Однако, масс-спектры фрагментации ионов пептидов, получаемые в этом методе характеризуются одновременным присутствием в каждом спектре пиков десятков фрагментов, пептидов с отличающимися последовательностями. Проблема деконволюции таких спектров с последующей идентификацией пептидов решается поисковыми инструментами DIA, как правило основанными на алгоритмах машинного обучения. Однако, результаты недавних исследований указывают на возможное завышение уровня достоверности идентификаций, заявляемого этими инструментами¹. Целью данной работы было выявление источников недостоверных идентификаций в результатах обработки данных DIA современными поисковыми

машинами, на примере одного из таких инструментов, DIA-NN². Особое внимание в нашей работе было уделено оценке влияния изменений на концах пептидных последовательностей на результаты поиска. Мы обнаружили, что пептиды с модификациями на С-конце ошибочно идентифицируются DIA-NN как немодифицированные, что приводит к ложным идентификациям. Данное исследование акцентирует внимание на необходимости дополнительного подтверждения результатов поиска протеомного анализа на основе DIA, и предлагает способы улучшения данных алгоритмов.

Литература

1. B. Wen, et al., *bioRxiv* 2024, doi: 10.1101/2024.06.01.596967
2. Vadim Demichev, et al., *Nat Methods* 2020, 17, 41-44.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-45-00012.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ДЕНСОВИРУСОВ ИЗ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ РУКОКРЫЛЫХ: РАСШИРЕНИЕ ПОНИМАНИЯ РОЛИ ЛЕТУЧИХ МЫШЕЙ В ЕДИНОМ ЗДОРОВЬЕ

Попов Ил.В.^а, Попов Иг.В.^{а,б}, Ермаков А.М.^а

^а Факультет «Биоинженерия и ветеринарная медицина», ДГТУ, Ростов-на-Дону, Россия

^б Направление «Иммунобиология и биомедицина», Центр генетики и наук о жизни, НТУ «Сирiuс», Федеральная территория «Сирiuс», Россия

Денсовирусы (подсемейство *Densovirinae*) представляют собой небольшие ДНК-содержащие вирусы, обнаруживаемые в широком спектре организмов. Их эволюция и взаимодействие с хозяевами остаются недостаточно изученными. В данном исследовании мы выявили и охарактеризовали денсовирусы в составе кишечной микробиоты двух видов летучих мышей: *Vespertilio murinus* и *Nyctalus noctula*. Фекальные образцы (n=10) были секвенированы методом парно-концевого shotgun-секвенирования на платформе Illumina NovaSeq 6000. Метагеномные сборки проведены с помощью SPAdes. Из сборок выделены последовательности денсовирусов с помощью BLAST и VirSorter2. Полученные 10 денсовирусов были филогенетически проанализированы на основе трёх однокопийных ортологов с использованием утилит Proteinortho, MAFFT и IQ-TREE. Оценка топологии деревьев производилась с генерацией 1000 реплик ультрабыстрого бутстрепа. Построенные филогенетические деревья и анализ множественных выравниваний подтвердили их близкое сходство с *Parus major densovirus* и *Tenebrio molitor densovirus*. Также с помощью анализа геномов в ruGenomeViz у 8 из 10 вирусов была выявлена полная геномная инверсия, что свидетельствует о вероятной смене хозяина¹. Вирусы подсемейства *Densovirinae*, известные как вирусы насекомых, способны преодолевать межвидовые барьеры, о чём свидетельствуют случаи заражения клеток насекомоядных птиц². Наши результаты указывают на возможность более сложного взаимодействия, включая адаптацию денсовирусов к организмам рукокрылых. Высокие темпы эволюции денсовирусов³ и уникальная физиология летучих мышей, нередко называемых «биореакторами вирусов», подчеркивают их возможную роль как неожиданной экологической ниши в эволюции вирусов насекомых.

Литература

1. C. M. Merrikkh., et al., *Nat. Commun* 2018, 9, 4662.
2. Y. Wang., et al., *Res Sq.* 2023, p. rs.3.rs-2593815.
3. H. Liu., et al., *J. Virol* 2011, 85, 9863-9876.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-14-00316.

СРАВНЕНИЕ МОДЕЛЕЙ ПРЕДСКАЗАНИЯ МАСС-СПЕКТРОВ ФРАГМЕНТОВ ПЕПТИДОВ И ИХ ВЛИЯНИЯ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНФОРМАЦИОННО НЕЗАВИСИМОГО ПРОТЕОМНОГО АНАЛИЗА

Протасов С.А.^{а,б}, Иванов М.В.^б, Горшков М.В.^б

^а Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет),
141700, Долгопрудный, Московская обл., Россия.

^б Институт энергетических проблем химической физики им. В.Л. Тальрозе, Федеральный исследовательский центр химической физики им.
Н.Н. Семенова РАН; 119334, Москва, Россия; электронная почта: mike.gorshkov@gmail.com

Информационно-независимый анализ клеточных протеомов (DIA) с использованием высокопроизводительной масс-спектрометрии становится основным методом в протеомике. Фрагментация пептидов в широких окнах изоляции приводит к мультиплексным спектрам с фрагментами десятков и более прекурсоров. Деконволюция спектров и идентификация пептидов осуществляются поисковыми машинами с использованием спектральных библиотек, полученных экспериментально или *in silico*. Подход *in silico* позволяет идентифицировать все потенциально присутствующие в смеси пептиды, но требует создания библиотек для каждой последовательности, что сейчас решается использованием современных моделей предсказания спектров на основе машинного обучения, ProSIT¹ и MS2PIP². В работе проведено сравнение моделей на полнопротеомных данных клеточных линий человека с целью изучения влияния предсказанных параметров масс-спектров фрагментации пептидов на эффективность анализа. Исследовано влияние профиля предсказанных пиков фрагментов и их количества на число идентифицируемых пептидов и белков, а также возможность комбинированного использования предсказанных спектральных библиотек для повышения пептидного покрытия белков. Сравнение библиотек выполнялось с помощью поисковой машины DIA-NN³ на основе нейронной сети, создавались библиотеки с различными профилями пиков и ложными наборами отношений масс к заряду для оценки специфичности инструмента и контроля ложноположительных идентификаций. Результаты могут применяться для разработки эффективных поисковых алгоритмов DIA.

Литература

1. Wilhelm, M., et al., *Nat Commun*, 2021, 12, 3346.
2. Declercq, A., et al., *Nucleic Acids Research*, 2023, 51, 338-342.
3. Demichev, V., et al., *Nat Methods*, 2020, 17, 41-44.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 23-45-00012.

РЯД МАЛЫХ ОТКРЫТЫХ РАМОК СЧИТЫВАНИЯ В 5'-НЕТРАНСЛИРУЕМЫХ ОБЛАСТЯХ ГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА НЕОБХОДИМ ДЛЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КЛЕТКИ

Разумова Е.А.^а, Макарюк А.М.^а, Бибишева Р.Д.^а, Донцова О.А.^{а,б,в}, Шепелев Н.М.^{а,б}, Рубцова М.П.^{а,б}

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: elizaveta_razumova@list.ru

^б Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук,
Россия, 117997, Москва, Миклухо-Маклая, д. 16/10

^в Центр молекулярной и клеточной биологии Сколковского института науки и технологий,
Большой бульвар. 30, Сколково, Московская область, 143025, Россия.

Современные исследования демонстрируют важность 5'-нетранслируемой области (5'-НТО) в регуляции экспрессии генов, особенно этапа трансляции¹. Одним из значимых элементов 5'-НТО являются малые открытые рамки считывания (мОРС), множество которых было обнаружено с развитием методов высокопроизводительного рибосомного профилирования. мОРС могут регулировать трансляцию² или кодировать функциональный пептид³. В настоящей работе мы показали, что мутации в ряде мОРС в 5'-НТО генов человека снижают жизнеспособность клеток. Поскольку этот эффект может быть связан с потерей микропептида, закодированного в мОРС, мы оценили консервативность выбранных мОРС. Кроме того, мы выяснили, как инактивация основной ОРС влияет на жизнеспособность клеток. Полученные данные свидетельствуют о том, что наблюдаемые эффекты скорее связаны с нарушением регуляции трансляции нижележащей основной ОРС, нежели с потерей микропептида. В связи с этим, с помощью двойных люциферазных репортеров мы выяснили, как целевые

мОРС влияют на трансляцию основной ОРС. Известно, что помимо мОРС ряд других особенностей 5'-НТО, таких как G-квадруплексы, модификации РНК и т.д. могут оказывать влияние на трансляцию¹. Поэтому с помощью имеющихся биоинформатических подходов мы предсказали такие потенциальные элементы в исследуемых мишенях.

Литература

1. Leppek K., et al., *Nat Rev Mol Cell Biol* 2017, 19, 158-174.
2. Smirnova A.M., et al., *Cell Reports* 2024, 43, 113976.
3. Hofman D.A., et al., *Molecular Cell* 2024, 84, 261-276.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-14-00058.

ВЛИЯНИЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК НА РЕГУЛЯЦИЮ ЭКСПРЕССИИ ЦИСТЕИНОВЫХ КАТЕПСИНОВ

Родионов И.В.^{а,в}, Кузнецова Е.В.^а, Немцова М.В.^{а,б}, Замятнин А.А. (мл)^{в,г}

^аПервый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет), 119991 Москва, Россия,

^бЛаборатория эпигенетики, Научно-исследовательский центр медицинской генетики, 115522 Москва, Россия,

^вФакультет биоинженерии и биоинформатики, МГУ имени М.В. Ломоносова, 119234 Москва, Россия,

^гНИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского, МГУ имени М.В. Ломоносова, 119992 Москва, Россия,

электронная почта: ivan1rodionov@gmail.com

Цистеиновые катепсины это группа из 11 протеиназ, играющих значимую роль в различных биологических процессах человеческого организма¹. Кроме того, было показано, что при различных патологических состояниях возможно нарушение регуляции экспрессии этих ферментов, что особенно характерно для ряда опухолевых заболеваний и подчеркивает необходимость дальнейшего исследования механизмов регуляции их экспрессии^{2,3}. В данной работе проводились исследования на наличие и влияние метилирования CpG-островков в промоторных регионах генов цистеиновых катепсинов, используя клеточные линии эмбрионального и опухолевого происхождения. В начале был проведён биоинформатический анализ промоторных регионов генов катепсинов, который показал наличие CpG-островков в промоторах 8 из 11 генов цистеиновых катепсинов. Также был выполнен количественный анализ накопления мРНК генов цистеиновых катепсинов. Было выявлено, что для отдельных цистеиновых катепсинов данные о степени метилирования промоторных регионов коррелировали с данными об экспрессии мРНК. Полученные результаты свидетельствуют о том, что метилирование ДНК является значимым механизмом эпигенетической регуляции экспрессии цистеиновых катепсинов, причем этот эффект существенно различается между эмбриональными и опухолевыми клеточными линиями. Молекулярные механизмы, определяющие выявленные различия в метилировании промоторных областей, потенциально могут быть использованы в качестве новых маркеров и мишеней при разработке диагностических и терапевтических систем нового поколения.

Литература

1. Rawlings, N.D., et al., *Nucleic Acids Res.*, 46, D624–D632.
2. Gocheva, V., et al., *Genes Dev.*, 20, 543–556.
3. Yadati T, et al., *Cells*. 2020 Jul 13;9(7):1679.

ПОЛИ(АДФ-РИБОЗА)-ПОЛИМЕРАЗА 2 МЕНЯЕТ СТРУКТУРУ КОРОВОЙ ОБЛАСТИ НУКЛЕОСОМЫ

Саулина А.А.^а, Малюченко Н.В.^а, Феофанов А.В.^а, Студитский В.М.^б

^аМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: lys-alex-bio-msu@yandex.ru

^бЦентр исследования рака Фокс Чейз, Филадельфия, США

Одно- и двухцепочечные разрывы ДНК нередко приводят к гибели клетки или к её злокачественному перерождению. Спасти клетку от таких неблагоприятных исходов помогают системы репарации ДНК.

Поли(АДФ-рибоза)-полимераза 2 (PARP-2) является ядерным ферментом, участвующим в регуляции работы систем репарации. PARP-2 создаёт сигнал в виде поли(АДФ-рибозы), который рекрутирует факторы репарации к месту разрыва ДНК. Нарушение данного процесса — поли(АДФ-рибозилирование) — может привести к сбою в работе систем репарации и гибели клетки. Появление новых данных об особенностях работы PARP-2 может открыть возможность регуляции его эффектов внутри клетки. Для исследования взаимодействия PARP-2 с хроматином в контексте нуклеосом нашей группой была выбрана система мононуклеосом.

Нами впервые был обнаружен эффект ионов Zn^{2+} на работу PARP-2, что стало неожиданным, так как в PARP-2 неизвестны Zn^{2+} -связывающие сайты. Было обнаружено, что в присутствии Zn^{2+} PARP-2 способен изменять структуру нуклеосом, делая их менее компактными. Исследования проводились с помощью метода *sp*FRET-микроскопии одиночных молекул с использованием мононуклеосом с различным расположением флуоресцентных меток. Это позволило определить, что эффект PARP-2 на структуру нуклеосом распространяется на всю коровую область нуклеосомы: структурные изменения, оказываемые PARP-2, затрагивают области входа ДНК в нуклеосому, выхода ДНК из нуклеосомы и центральную область нуклеосомы. Согласно нашей модели, в присутствии ионов Zn^{2+} PARP-2 увеличивает расстояние между соседними витками нуклеосомной ДНК. Полученные результаты вносят вклад в понимание механизмов взаимодействия PARP-2 с хроматином.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 19-74-30003.

РЕГУЛЯТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ТОКСИЧНОЙ АМИНОКИСЛОТЫ БЕТА-N-МЕТИЛАМИН-L-АЛАНИН (ВМАО) НА МЕТАБОЛИЗМ НИТЧАТЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ: ПРОТЕОМНЫЙ ПОДХОД

Сафронова Н.А., Кокшарова О.А.

*Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40
электронная почта: safronova.nina2007@mail.ru, koksharova@belozersky.msu.ru*

Высокая пластичность и способность к адаптации цианобактерий – древнейших фотосинтезирующих бактерий, обеспечивается большим количеством их разнообразных вторичных метаболитов, многие из которых имеют экологическое, биотехнологическое и медицинское значение¹. Предполагается, что продукты метаболизма могут быть инструментами аллелопатии. Некоторые метаболиты цианобактерий токсичны для клеток растений, животных и человека. Среди них особое место занимает нейротоксичная небелковая аминокислота бета-N-метиламин-L-аланин (ВМАО)². Наша работа была нацелена на изучение особенностей регуляторного действия ВМАО на экспрессию генов и белков нитчатой азотфиксирующей цианобактерии *Nostoc* sp. PCC 7120 с помощью методов геномики и протеомики²⁻⁴. Мы обнаружили строгий регуляторный эффект ВМАО на ключевые белки, функционирующие в азотном и углеродном метаболизме данной цианобактерий, а также на ферменты, участвующие в метаболизме аминокислот, ферменты репарации ДНК, белки окислительного стресса, белки-шапероны, регуляторные и транспортные белки, на белковые комплексы фотосистем 1 и 2.

Литература

1. Кокшарова О.А., *Микробиология* 2010, 79 № 6, 734-747.
2. Koksharova O. A., Safronova N. A., *Toxins* 2022, 14(8):539, 1-28.
3. Koksharova O. A., Butenko I. O., Pobeguts O. V., Safronova N. A., Govorun V. M., *Toxins* 2020, 12(5):310, 1-27.
4. Koksharova O. A., Butenko I. O., Pobeguts O. V., Safronova N. A., Govorun V. M. *Toxins* 2021, 13(5):325, 1-38.

Работа выполнена при финансовой поддержке государственных программ № АААА-А17-117120570011-4 (2013-2023 годы) и № 124020800082-3 (2024-2026 годы).

ИССЛЕДОВАНИЕ ВКЛАДА ИНГИБИТОРА СПЛАЙСИНГА ПЛАДИЕНОЛИДА В УВЕЛИЧЕНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ УЯЗВИМОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК К ДНК-ПОВРЕЖДАЮЩИМ ПРЕПАРАТАМ

Свирина Е.А.^а, Лукина М.М.^а, Ануфриева К.С.^а, Шнайдер П.В.^а, Арапиди Г.П.^{а,б},
Иванова О.М.^а, Гончаров А.О.^{а,в}, Лагарькова М.А.^а, Говорун В.М.^г, Шендер В.О.^{а,б}

^аФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Россия

^бИнститут биорганической химии им. Шемякина-Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия

^вРоссийский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

^гНаучно-исследовательский институт системной биологии и медицины, Москва, Россия

Модуляторы сплайсинга, нацеленные на коровый белок сплайсосомы SF3B1, являются перспективными противоопухолевыми агентами, однако их цитотоксический эффект остается недостаточно изученным, что ограничивает использование данной группы препаратов в клинической практике. Ранее нами показано, что предварительная инкубация опухолевых клеток с модуляторами сплайсинга повышает их чувствительность к ДНК-повреждающим агентам.

Для изучения механизма данного синергетического эффекта мы проанализировали изменения протеомного профиля, белков-партнеров SF3B1, а также провели фосфопротеомный анализ под действием пладиенолида В (PI-B). Установлено, что PI-B значительно обогащает пул белков-партнеров SF3B1 и ослабляет его взаимодействие с белками сплайсосомы, а также белками, регулирующими ацетилирование гистонов, что может указывать на диссоциацию SF3B1 от хроматина и смену паттерна сплайсинга с котранскрипционного на посттранскрипционный.

Мы показали снижение представленности и фосфорилирования белков, контролирующих хромосомную организацию, клеточный цикл и репарацию ДНК. Это может объяснять усиление раннего репликативного стресса в ответ на повреждение ДНК после обработки PI-B. Полученные данные открывают терапевтический потенциал ингибиторов сплайсинга для применения в клинической практике.

Литература

1. Ksenia S. Anufrieva, et al. *Unlocking DNA Damage Sensitivity of Cancer Cells: The Potential of Splicing Inhibitors*. bioRxiv 2023.10.08.561421

УВЕЛИЧЕНИЕ ТИТРА ГЛИКОПРОТЕИНОВЫХ ГОРМОНОВ В СТАБИЛЬНО ТРАНСФИЦИРОВАННЫХ КЛЕТКАХ СНО ПРИ ПОМОЩИ СИГНАЛЬНОГО ПЕПТИДА ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА ДЛЯ БЕТА-ЦЕПЕЙ

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

Институт биоинженерии ФИЦ Биотехнологии РАН, 117312 г. Москва, пр-т 60-летия Октября, д.7, корп.1

Семейство гликопротеиновых гормонов у человека включает в себя тиреотропный гормон (ТТГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ), а также хорионический гонадотропин (ХГ). Данные гормоны представляют собой нековалентно связанные гетеродимеры, состоящие из общей для семейства α - и специфической β -цепей, и на сегодня их получают преимущественно рекомбинантным путем в культуре клеток яичника китайского хомячка (СНО).

С целью максимизации титра гормонов для каждой β -цепи соответствующего гормона исследовали четыре сигнальных пептида (СП): нативный сигнальный пептид β -цепи (НСП), а также гетерологичные для β -цепи сигнальные пептиды – азуроцидина (Азу), человеческого сывроточного альбумина (ЧСА), общей α -цепи (аСП). Для оценки уровней секреций гетеродимерных гормонов и свободных цепей использовали метод иммуноферментного анализа (ИФА) и вестерн-блоттинга.

В стабильно трансфицированных культурах СНО после селекции и геномной амплификации, то есть при фармацевтически релевантных продуктивностях, сигнальный пептид ЧСА оказался наиболее

эффективным. При его использовании удельная продуктивность клеток была увеличена для ЛГ (2,5 пг/клетку, 4-кратное увеличение), ТТГ (1,6 пг/клетку, 13-кратное увеличение) и ХГ (1,0 пг/клетку, 60%-ное увеличение). При этом, согласно результатам ИФА, вестерн-блоттинга и ПЦР в реальном времени, различия в уровне секреции гетеродимерных форм гормонов не связаны с повышенным синтезом α -цепи или различиями в числе копий генетических конструкций, интегрированных в геном, а также с наличием шпилек в мРНК (расчет по алгоритму RNAfold).

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ.

ВЛИЯНИЕ G-БОГАТОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ПРОМОТОРА ГЕНА TERT НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ БЕЛКОВ СИСТЕМЫ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ

Сныга В.Г.^а, Китаева М.И.^а, Савицкая В.Ю.^а, Зверева М.Э.^а, Кубарева Е.А.^б

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: snyga.viktoria000@gmail.com

^б Институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д.1, стр.40

Обратная транскриптаза человека (*hTERT*) – фермент, поддерживающий длину теломер, активный в стволовых, половых и раковых клетках. Мутации в промоторе *hTERT* ассоциированы с онкологией и часто представлены заменами G>A в матричной цепи (C>T в кодирующей) в позициях 124, 146 и 138/139.

Промотор *hTERT* включает G-богатую некодирующую область (C-богатую кодирующую), склонную к образованию вторичных структур и окислительных повреждений. Например, 8-оксо-2'-дезоксигуанозин (8-охоG) репарируется 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазой (OGG1) с последующим действием апурин/апириимидиновой (AP) эндонуклеазы (APE1). Мутации C>T в комплементарной цепи возникают при спонтанном дезаминировании dC или ошибках ДНК-полимеразы, за их репарацию отвечают белки системы репарации “мисматчей” (MMR): MutS и MutL.

Мы предположили, что закрепление описанных мутаций связано со снижением эффективности работы BER и MMR в GC-богатой области промотора *hTERT*. Было изучено взаимодействие ферментов OGG1, APE1, MutS и MutL с модельными фрагментами *hTERT*, содержащими модификации G>X или C>Y, где X – 1,2-дидезоксирибоза (THF – аналог AP-сайта), 8-охоG или dA; Y – THF или dT.

Эффективность BER была снижена на ДНК с модификациями в 124 и 146 положениях. Функционирование APE1 зависело от стабильности вторичной структуры, образованной G-богатой цепью промотора, а OGG1 дополнительно чувствительна к нуклеотидному окружению модификации¹. Ферменты MMR эффективно работают на дуплексной ДНК, однако их активность снижается при образовании G-богатой цепью вторичных структур².

Литература

1. Savitskaya VY., et al., *Int J Mol Sci.* 2025, 26, 337.
2. Savitskaya VY., et al., *Int J Mol Sci.* 2023, 24, 6167.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 21-14-00161.

КРЕМНИЕВЫЕ МИКРОИГЛЫ, ДЕКОРИРОВАННЫЕ ЗОЛОТОМ, ДЛЯ АНАЛИЗА СИГНАЛОВ ГИГАНТСКОГО КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ И КОНТРОЛИРУЕМОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ В МАСШТАБАХ ОДНОЙ КЛЕТКИ

Собина И.О.^а, Тюрин-Кузьмин П.А.^а, Первушин Н.В.^а, Кудрявцев А.А.^б, Божьев И.В.^а, Мяконьких А.В.^а, Ломовская Я.В.^б, Гришко А.Ю.^а, Елисеев А.А.^а, Осминкина Л.А.^а

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: igo.sobina@yandex.ru

^б Институт Теоретической и Экспериментальной Биофизики РАН, Россия, 142290, Пущино, ул. Институтская, 3.

Исследование процессов в клетках на молекулярном уровне, в том числе и при различных внешних воздействиях, является одной из важных задач современной биомедицины^{1, 2}. Одним из перспективных методов исследования молекулярного состава веществ является спектроскопия гигантского комбинационного рамановского рассеяния³.

В данной работе были получены кремниевые микроиглы, декорированные наночастицами золота в виде дендритных структур на их поверхности (Au@КМИ). Клетки рака молочной железы MDA-231, инкубированные на Au@КМИ, хорошо адгезируются на микроструктуры и иммобилизуются. Au@КМИ не демонстрируют выраженной цитотоксичности по отношению к клеткам на протяжении 72 часов наблюдения. В спектре рамановского рассеяния клеток, инкубированных на Au@КМИ наблюдаются характерные клеточные пики от ядра и цитоплазмы, что подтверждает ГКР-активность структур. При исследовании спектров ГКР клеток на Au@КМИ, предварительно инкубированных с противоопухолевым веществом доксорубицином, было обнаружено уменьшение сигналов от клеточных компонент, что указывает на процесс гибели клеток.

Данные, полученные в работе, открывают путь к созданию новых методов и структур для детального понимания процессов взаимодействия лекарств с клетками.

Литература

1. Santra T. S, et al., *Cells* **2020**, 9, 1993.
2. Tyurin-Kuzmin P. A., et al., *Frontiers in Cell and Developmental Biology* **2023**, 11, 1179911.
3. Auner G. W., et al., *Cancer and Metastasis Rev.*, **2018**, 37, 691-717.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта НОШ, проект 23-SCH06-19 и гранта Фонда развития теоретической физики и математики «БАЗИС» 24-2-2-24-1.

ИССЛЕДОВАНИЕ Т-КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ И Т-КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

Твердова Н.Д.^{а,б}, Поляков Ф.М.^в, Тулякко В.Е.^в, Табакян Е.А.^г, Д.М. Чудаков Д.М.^{б,в}, Британова О.В.^{б,в}

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, nd.tverdova@gmail.com

^б НИИ трансляционной медицины ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова», Россия, 117513, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1, стр. 1.

^в Институт биоорганической химии имени М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Россия, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10

^г ФГБУ «НМИЦК имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России, Россия, 121552, г. Москва, ул. Академика Чазова, д.15а

Атеросклероз – хроническое воспалительное поражение стенок артерий, являющееся ведущей причиной смертности и сердечно-сосудистых заболеваний. Современные исследования акцентируют внимание на вовлечении адаптивной иммунной системы в патогенез заболевания.¹

Целью работы являлось изучение вклада субпопуляций Т-лимфоцитов в воспалительный процесс, а также выявление паттерна распределения Т-клеточных клонов в сосудистой стенке. В исследование включено 6 коронарных атеросклеротических бляшек и соответствующие образцы периферической крови. Из трех бляшек выделены фракции CD45+ лимфоцитов, подготовлены кДНК библиотеки и проведен анализ транскриптома единичных клеток. Три бляшки механически разделены на фрагменты, репертуары Т лимфоцитов получены с использованием мультиплексной системы и молекулярных баркодов (UMI), также получены репертуары Т-клеточных рецепторов лимфоцитов крови. Проведены секвенирование на платформе Illumina и комплексный биоинформатический анализ полученных данных. Выявлено преобладание проатерогенного Th1-фенотипа среди CD4+ клеток бляшек, с помощью подхода псевдовремени описано направление дифференциации CD4+ и CD8+ Т лимфоцитов. Установлено, что репертуары бляшек обогащены LTB+ эффекторными CD4+ Т клонами с низкой экспрессией цитотоксических молекул GZMK, GZMB. Выделен кластер CD8+ KLRB1+ Т-лимфоцитов, преимущественно представленный в бляшках. Равномерность распределения вирус-специфичных Т-лимфоцитов в бляшке и периферической крови может указывать на пассивную инфильтрацию. Выявлена статистически достоверная гетерогенность распределения Т-клеточных рецепторов в бляшке, что может свидетельствовать об антиген-специфичной пролиферации отдельных Т-клонов *in-situ*.

Литература

1. Juhasz, V., et al. Atherosclerosis 2024, 399, 118–616.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИБХ 124051400040-1

РЕКОМБИНАНТНЫЙ АНТИГЕН CASTLE1 ДЛЯ РАЗРАБОТКИ УНИВЕРСАЛЬНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИРУСА БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА

Торопов С.Е., Рябчевская Е.М., Евтушенко Е.А., Никитин Н.А., Карпова О.В.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
Биологический факультет, Кафедра вирусологии, Москва, Россия,
электронная почта: stepan.toropov@mail.ru

Вирус болезни Ньюкасла (NDV) — возбудитель высококонтагиозного заболевания птиц. NDV распространён повсеместно и способен поражать сельскохозяйственных и диких птиц, вызывая массовую гибель. NDV обладает высокой антигенной вариабельностью, выделяют более 20 генотипов, наиболее распространёнными являются V, VI и VII генотипы.

Существующие вакцины, разработанные на основе I и II генотипов, не обеспечивают полной защиты из-за генетического расхождения между вакцинными и актуальными штаммами. Одним из перспективных направлений в данной области является разработка рекомбинантных вакцин.

В исследовании создан полиэпитопный рекомбинантный антиген Castle1, содержащий протектив-

ные эпитопы белка HN, характерные для современных штаммов NDV VII генотипа. Генетическая конструкция на основе вектора pQE-30 позволила экспрессировать Castle1 в клетках *E. coli*.

В работе было показано, что сыворотки к NDV распознают Castle1, а иммунизация мышей антигеном Castle1 индуцирует выработку антител, связывающих NDV разных генотипов. Тесты на цыплятах подтвердили, что антитела, выработанные после иммунизации Castle1, способны взаимодействовать с различными полевыми изолятами NDV, включая высоковирулентный изолят генотипа VII¹.

Castle1 может стать основой для универсальной рекомбинантной вакцины, эффективной против различных штаммов NDV. Преимущества включают высокую безопасность и возможность быстрой модификации эпитопов для адаптации к новым штаммам, что важно для снижения заболеваемости в птицеводстве.

Литература

1. Rtishchev A., Treshchalina A., Shustova E., Boravleva E., Gambaryan A. An Outbreak of Newcastle Disease Virus in the Moscow Region in the Summer of 2022. *Veterinary Sciences*. 2023; 10(6):404.

ИНДУКЦИЯ НЕАПОПТОТИЧЕСКОЙ ГИБЕЛИ КЛЕТОК ГЛИОБЛАСТОМЫ

Тохтуева М.Д.^а, Мелехин В.В.^{а,б}, Абрамов В.М.^а, Ельцов О.С.^а

^а Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Россия, 620062, Екатеринбург, Мира, д. 19.
электронная почта: maria.tokhtueva@urfu.ru

^б Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Россия, 620028, Екатеринбург, Репина, д. 3.

Индукция неапоптотической гибели неопластических клеток является перспективным направлением исследований, так как потенциально может позволить преодолеть существующие в настоящее время в клинической практике проблемы, такие как резистентность к лечению, а также снизить побочные эффекты, при этом сохранив терапевтический эффект. Помимо апоптоза известны некроптоз, пироптоз¹, аутофагия², ферроптоз³ и др.

Мы показали, что хлор платиновый (II) комплекс 6-(4-((2-этилгексил)окси)фенил)-2,2'-бипиридина вызывает неапоптотическую гибель клеток глиобластомы по некротическому морфотипу. Данное соединение индуцирует выработку большого количества активных форм кислорода и, как следствие, окислительный стресс, приводящий к перекисному окислению липидов клеточных мембран⁴. Оценка уровня экспрессии белков показала, что комплекс значительно ингибирует активность глутатионпероксидазы 4 (GPX4), участвующей в системе антиоксидантной защиты клетки, а также более чем в 2 раза снижает активность транскрипционного фактора NRF2, который необходим для выживания клеток во время окислительного стресса. Важно отметить, что хлор платиновый (II) комплекс 6-(4-((2-этилгексил)окси)фенил)-2,2'-бипиридина оказался инактивирован в присутствии антиоксиданта N-Ацетил-L-цистеина. Таким образом, данное соединение является перспективным фармакологическим агентом, так как имеет отличный от применяющихся в медицинской практике препаратов, например, цисплатина, механизм индукции клеточной смерти.

Литература

1. Wang Y., et al., *Comput. Struct. Biotechnol. J.*, 2021, **19**, 4641-4657.
2. Потапнев М.П., *Иммунология*, 2014, **35(2)**, 95-102.
3. Dixon S. J., et al., *Cell*, 2012, **149(5)**, 1060-1072.
4. Tokhtueva, M.D., et al., *Biometals*, 2025, **38**, 185-202.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-23-00375.

РОЛЬ МАЛЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ 6S-1 И 6S-2 РНК В ПРОЦЕССЕ БИОСИНТЕЗА БИОГЕННОГО ПОВЕРХНО-АКТИВНОГО ВЕЩЕСТВА СУРФАКТИНА КЛЕТКАМИ *BACILLUS SUBTILIS*

Трефилов В.С.^{а,б}, Линдин Е.Ю.^б, Вирясов М.Б.^а, Коркунова Е.А.^б, Кубарева Е.А.^а

^аНИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, с. 40
электронная почта: trefilov.vadik@gmail.com

^бХимический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, с. 3

Сурфактин – поверхностно-активное вещество биологического происхождения, имеющее высокий потенциал практического применения. Он относится к классу липопептидов и состоит из циклического гептапептидного фрагмента и остатка жирной кислоты. В настоящее время основным способом его получения является микробиологический синтез в бактериях рода *Bacillus*. Повышение эффективности синтеза сурфактина в них является актуальной задачей.

В работе использовали два штамма бактерий *Bacillus subtilis* – природный NCIB 3610 и лабораторный РУ79. Объектами исследования были глобальные регуляторы транскрипции в *B. subtilis* – малые некодирующие 6S-1 и 6S-2 РНК, а предметом – их влияние на биосинтез сурфактина.

Показано, что делеция гена 6S-1 РНК приводит к повышению уровня мРНК всех генов оперона *surfA*, кодирующего сурфактин-синтетазу, в поздней стационарной фазе роста для обоих штаммов. Удаление гена 6S-2 РНК не влияет на эффективность транскрипции генов сурфактин-синтетазы ни в одном из штаммов. Для штамма РУ79 с нокаутом генов и 6S-1, и 6S-2 РНК сохраняется активация транскрипции генов оперона *surfA* в поздней стационарной фазе роста, в то время как для штамма 3610 с двойным нокаутом в той же фазе наблюдается уменьшение эффективности транскрипции генов оперона *surfA*.

Содержание сурфактина в культуральной жидкости определяли методом ВЭЖХ с УФ-детекцией. Для количественных расчетов применяли специально созданный алгоритм градуировки для суммы пиков изоформ SF. Показано, что эффективность синтеза сурфактина не коррелирует напрямую с уровнем синтеза мРНК генов оперона *surfA*. Проведено дополнительное исследование уровня транскрипции генов, связанных с катаболизмом Glu в клетках *B. subtilis*. Обнаружено 20-ти кратное увеличение количества мРНК гена глутамат дегидрогеназы *RocG*.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-24-00193.

ОЦЕНКА КОМПАКТИЗАЦИИ МОЛЕКУЛ ДНК И РНК В КЛЕТКАХ С ПОМОЩЬЮ НИЗКОЧАСТОТНОЙ КР-МИКРОСПЕКТРОСКОПИИ

Трубицын А.А.^{а,б}, Паращук О.Д.^а, Чичерин И.В.^в, Корсаков А.В.^г, Балева М.В.^в,
Пиунова У.Е.^в, Каменский П.А.^в, Паращук Д.Ю.^а, Сосорев А.Ю.^{а,б}

^{а,в}Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, ^афизический факультет, ^вбиологический факультет
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: trubitcyn.aa18@physics.msu.ru

^гИнститут синтетических полимерных материалов имени Н.С. Ениколопова РАН, Россия, 117393, Москва, Профсоюзная улица, 70,
^гИнститут геологии и минералогии им. В.С. Соболева СО РАН, Россия, 630090, г. Новосибирск, проспект Академика Коптюга, 3.

Компактизация ДНК и РНК определяет экспрессию генов и протекание других важнейших клеточных процессов, например, репликации и репарации ДНК. Диагностика компактизации биомолекул в перспективе позволит исследовать фундаментальные клеточные процессы и станет информативной составляющей анализа состояния клеток организма человека. Одним из методов, предоставляющих данные о конформационном состоянии молекул, является низкочастотная (НЧ) спектроскопия комбинационного рассеяния (КР)¹.

В данной работе показано, что интенсивность НЧ области спектров КР биомолекул ДНК и РНК может быть индикатором их компактизации². Были исследованы молекулы ДНК и РНК с различной компак-

тизацией, а также проведено НЧ КР-картирование клеток HeLa. Для образцов более компактизованных молекул ДНК и РНК наблюдается меньшая интенсивность сигнала в НЧ области спектра. Впервые реализованное НЧ КР-картирование клеток показало, что наименьшая интенсивность НЧ области спектра КР наблюдается в центре клеток, где находятся ядро и молекулы ДНК, компактизованные в хроматине. Таким образом, интенсивность НЧ области спектра КР может быть использована для выявления компактизации ДНК и РНК, а разработанный метод НЧ КР-картирования клеток позволяет определять компактизацию биомолекул и хроматина в различных частях клеток. Ожидается, что методика будет способствовать развитию молекулярной и клеточной биологии.

Литература

1. A. Yu. Sosorev, et al., *JETP Letters* 2022, **116**, 335–341.
2. A. Yu. Sosorev, et al., *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2024, **26**, 17467-17475.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 25-22-00184.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФАКТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ В РЕГУЛЯЦИИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Ульянова Ю.А.^{а,б}, Гасса М.^{а,б}, Степанов Н.Г.^{а,в}, Качаев З.М.^а, Шидловский Ю.В.^{а,в}

^а Институт биологии гена РАН, 119334, г. Москва, ул. Вавилова, д. 34/5,
электронная почта: julipolunina1999@gmail.com

^б Московский физико-технический институт, 141701, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок, д.9.,
^в Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 119048, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

Drosophila melanogaster является удобной модельной системой для исследования врожденного иммунного ответа, так как механизмы, регулирующие этот процесс, высоко консервативны среди биологических видов, включая человека. В иммунном ответе задействовано семейство транскрипционных факторов NF-κB, активирующих экспрессию генов антимикробных пептидов (АМП) через сигнальные пути IMD и Toll.

Однако, помимо NF-κB, в регуляции генов АМП участвуют также множество других факторов транскрипции¹, например, FOXO², AP-1³, факторы семейства GATA⁴.

Цель исследования — систематическое изучение кооперации факторов транскрипции в масштабах всего генома при активации иммунного ответа.

Для активации иммунного ответа клетки S2 инкубировали с инактивированными культурами *E. coli* (2 часа или ночь). С помощью иммунопреципитации хроматина (ChIP) оценивали изменение привлечения транскрипционных факторов к промоторам АМП-генов до и после инфекции. Методом РНК-интерференции проводили нокдаун генов факторов транскрипции, после чего анализировали уровень экспрессии АМП-генов и обогащение NF-κB в их промоторных областях.

Полученные данные помогут лучше понять механизмы регуляции врожденного иммунного ответа у *Drosophila melanogaster* и могут быть полезны для изучения аналогичных процессов у человека.

Литература

1. Yu S, et al., *Front Immunol.* 2022, **13**, 905370.
2. Becker T, et al., *Nature* 2010, **463**, 369-373.
3. Kim LK, et al., *PLoS Biol.* 2007, **5**, e238.
4. Senger K, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2006, **103**, 15957-15962.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-14-00348.

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕКОМБИНАНТНОГО АНТИГЕНА ВИРУСА БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛЕВЫХ СЫВОРОТОК

Умарова Е.П., Торопов С.Е., Рябчевская Е.М., Евтушенко Е.А., Никитин Н.А., Карпова О.В.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра вирусологии, Москва, Россия, электронная почта: liza.shinkarenko@gmail.com

Orthoavulavirus javaense или вирус болезни Ньюкасла (ВБН) является возбудителем высококонтагиозного вирусного заболевания птиц. Для борьбы с данным заболеванием применяют живые аттенуированные и инактивированные вакцины, не способные обеспечить защиту от наиболее патогенных и распространенных V, VI и VII генотипов ВБН¹. Именно поэтому разработка эффективной рекомбинантной вакцины является актуальной задачей ветеринарной вирусологии.

Ранее в нашей лаборатории на основе последовательности поверхностного гликопротеина ВБН, гемагглютинин-нейраминидазы, был получен рекомбинантный антиген Castle1. В его состав были включены четыре эпитопа, разработанные на основе литературных данных и анализа последовательностей современных изолятов.

Целью данной работы было охарактеризовать иммунохимические свойства белка Castle1 с применением полевых сывороток, полученных на птицефабриках. В рамках работы рекомбинантный антиген был наработан в системе *E. coli*, выделен и очищен. Далее методом иммуноферментного анализа было проанализировано 56 сывороток с птицефабрик. Для группы сывороток с известной гемагглютинирующей активностью (14 образцов) было показано значимое отличие титров антител к антигену Castle1 от группы неиммунных сывороток. Шесть сывороток с наиболее высокими титрами к Castle1 были проанализированы методом вестерн-блот анализа. Было выявлено пять сывороток, антитела в составе которых способны связываться как с инактивированным вирусом болезни Ньюкасла (штамм Бор-74), так и с белком Castle1. Полученные данные свидетельствуют о том, что Castle1 является перспективным антигеном для создания вакцины против болезни Ньюкасла.

Литература

1. Dimitrov K.M., et al., *Infect. Genet. Evol.* 2019. V. **74**. № 2. P. 10391.

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОТОКОЛА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КДНК БИБЛИОТЕК ДЛЯ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ Т-КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ПЛАТФОРМЕ MGISEQ

Уразаева Д.Р.^{а,б}, Трусов Н.В.^{а,в}, Горбачев А.Ю.^а

^а ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России, Москва,

^б Московский физико-технический институт (НИУ), Москва,

^в ФГБУН "ФИЦ питания и биотехнологии", Москва

электронная почта: urazaeva.dr@phystech.edu

Исследование методами высокопроизводительного секвенирования репертуаров Т-клеточных рецепторов (TCR), а именно высоковариабельных последовательностей CDR3 региона, отвечающего за распознавание Т-клетками разнообразных антигенов, может помочь в разработке современных методов диагностики и лечения различных аутоиммунных, онкологических, инфекционных и других заболеваний.

В процессе приготовления кДНК-библиотек для TCR секвенирования от эффективности реакции переключения матрицы в синтезе кДНК зависит число детектируемых уникальных CDR3 клонотипов.

В своей работе мы провели оптимизацию реакции переключения матрицы, путем замены цепь-инвертирующего олигонуклеотида, изменения соотношения отдельных дезоксирибонуклеотидов, как описано в методике¹, увеличение количества единиц обратной транскриптазы и использования разных праймеров.

Эксперимент проводился на образцах РНК из РВМС двух здоровых людей-доноров и одной мыши

C57BL/6 из эксперимента по моделированию индуцированного воспаления кишечника у мышей. Для приготовления кДНК-библиотек была применена методика 5'-RACE, основанная на панели Mamedov et al.², адаптированная нами для технологии секвенирования MGISEQ.

По результатам обработки данных секвенирования семи кДНК библиотек из 2.3-3.1 млн парных прочтений было получено от 66.7 до 170 тыс. уникальных TCR- α клонотипов человека и 23 тыс. уникальных TCR- α клонотипов мыши, что сопоставимо с разнообразием детектируемых CDR3 в других случаях применения аналогичных методик^{3,4,5} и более чем в 30 раз превышает количество выявленных клонотипов в предыдущих экспериментах по применению нашей методики.

Литература

1. Lin W. Template-Switching Enhances Primer Extension Analysis of Transcription Start Sites, *UC San Diego*. 2019.
2. Mamedov I.Z. et al., Preparing unbiased T-cell receptor and antibody cDNA libraries for the deep next generation sequencing profiling, *Frontiers in Immunology*. 2013, 4, P. 456.
3. SMARTer Human TCR profiling kit (with UMIs), *Takara Bio, London, UK*.
4. SMARTer Mouse TCR profiling kit (with UMIs), *Takara Bio, London, UK*.
5. Snir T. et al. The temporal behavior of the murine T cell receptor repertoire following Immunotherapy. *Sci Data*. 2023, 10, 108.

IN SILICO ПРОГНОЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ЭЛЕКТРОФИЛЬНЫХ ФИТОХИМИКАТОВ С БЕЛКАМИ *E. COLI*

Фалетров Я.В.^{а,б}, Erdenechimeg Ch.^в, Яковец П.С.^{а,б}, Фролова Н.С.^а

^а Белорусский государственный университет (БГУ), Учреждение БГУ «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем», Республика Беларусь, 220006, Минск, ул. Ленинградская, д. 14, электронная почта: yaroslav82@tut.by

^б Белорусский государственный университет (БГУ), химический факультет, Республика Беларусь, 220050, Минск, ул. Ленинградская, д. 14.
^в Research Center, Institute of Traditional Medicine and Technology, Mongolia, 17042, Ulaanbaatar.

Escherichia coli широко основа для создания трансгенных биокатализаторов¹, а также имеет патогенные штаммы, что обуславливает интерес к изучению взаимодействий разнообразных веществ с ее белками, в том числе в формате виртуального высокопроизводительного скрининга (vHTVS). Используя программу Autodock Vina и оригинальную программу-помощник FYTdock^{2,3} проведен HTVS для ряда фитохимикатов, содержащих электрофильные и про-электрофильные группы, и множества структур белков *E. coli*. Критерием аффинности установлена величина рассчитываемой энергии связывания (E_{bind}) ≤ -8 и локализация электрофильных групп вблизи ($\leq 0,4$ нм) атома серы остатка цистеинов или редокс-активных групп. Такие взаимодействия выявлены для следующих пар лиганд (код по базе Pubchem (группа, род растения)) – белок (код по базе PDB (E_{bind} , близкорасположенный остаток)): CID15609884 (диенамид, *Echinacea*) – 6sci (-8,2; C841), CID14655097 (диин, *Platycodon*) – 2vba (-8; C163), 1b3n (-8,2; C163), 6sci (-8,6; C841), 8f68 (-8,6; Cu1003), CID14466572 (α -метиллактон, *Artemisia*) - 1zprc (-8,7; C146), 1bq1 (-8,6; C146), 1axw (-8,5; C146). Методом LC-MS в экстракте эхинацеи выявлено наличие двух изомеров ундекадиендиин изобутиламида (m/z 290). Добавление данного экстракта в культуру *E. coli* ($A_{600} = 2$, 100 мкг экстракта/мл, 37°C, 60 мин. прединкубации) подавляло восстановление нитротетразолиевого синего. Полученные результаты *in silico* показывают, что использованная методика vHTVS позволяет эффективно прогнозировать новые потенциальные белки-мишени для фитохимикатов, способствуя развитию новых взглядов на взаимодействия веществ с белками бактерий и дизайна лекарств.

Литература

1. Новикова Л.А., и др., *Успехи биологической химии*. 2009, **49**, 158-208.
2. Фалетров Я.В., и др., *Известия НАН Беларуси. Серия хим. наук*. 2022, **58**, 42-47.
3. Фалетров Я.В., и др., *Вестник БРФФИ*. 2022, **4**, 42-47.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ, проект X23MH-005.

РАЗРАБОТКА ДВУЛЮЦИФЕРАЗНОЙ СИСТЕМЫ ДЛЯ ПРИЖИЗНЕННОГО НАБЛЮДЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ МРНК В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ

Федоровский А.Г.^{а,б}, Валихов М.П.^в, Панова Е.А.^{а,б}, Забонова О.В.^г, Липатова А.В.^в, Дмитриев С.Е.^{а,б}

^а НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,

^б Факультет биоинженерии и биоинформатики и Химический факультет,
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,

Россия, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1

^в Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Россия, 119991 Москва, ул. Вавилова, д. 32
электронная почта: fed@belozersky.msu.ru

Люциферазные системы широко применяются для анализа экспрессии генетических конструкций. Принцип работы люцифераз основан на хемилюминесценции, возникающей при ферментативном окислении люциферина. Они обеспечивают высокое соотношение сигнал/шум, позволяют анализировать быструю динамику появления продукта и более эффективны *in vivo* по сравнению с флуоресцентными репортерами. Использование двух люцифераз с разными спектрами (например, классическая двулюциферазная система на основе ферментов светлячка и *Renilla*) позволяет отслеживать параллельно идущие процессы. Однако люцифераза *Renilla* использует непроницающий и довольно токсичный субстрат целентеразин, что ограничивает её использование в прижизненных измерениях.

Цель данной работы — создание двулюциферазной системы для прижизненного отслеживания динамики экспрессии репортеров в культурах клеток и *in vivo*. Выбраны люциферазы *P. plagiophthalmus* (обладающая люминесценцией в зеленом диапазоне) и *L. curciata* (с пиком люминесценции в красной области), использующие одинаковый проникающий субстрат. На их базе разработаны конструкция для мониторинга стрессового ответа, сенсор стресса эндоплазматического ретикулума на основе цитоплазматически сплайсируемой мРНК *XBP1*, а также конструкция на основе регуляторных элементов гена *ATF4*, реагирующая на широкий круг клеточных стрессов. Пилотные эксперименты *in vivo* подтвердили возможность прижизненной раздельной детекции двух люцифераз в мышах.

Разработанная система позволяет одновременно анализировать стрессовый ответ и экспрессию репортерных мРНК с разными механизмами инициации трансляции в реальном времени, а также прогнозировать распределение терапевтических мРНК (например, доставленных липидными наночастицами) в живом организме.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-14-00218.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО ЭКСПРЕССИРУЮЩИЕСЯ НЕКОДИРУЮЩИЕ РНК И РЕГУЛИРУЕМЫЕ ИМИ СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ КАК ВОЗМОЖНЫЕ МИШЕНИ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Филиппова Е.А.^а, Пронина И.В.^б, Брага Э.А.^а

^а ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, д.8,
электронная почта: p.lenyuxa@yandex.ru, zolly_sten@mail.ru,

^б ФГБНУ Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Россия, 119334, Москва, ул. Косыгина, д.4.

Некодирующие РНК участвуют в регуляции сигнальных путей, приводящих к прогрессированию рака молочной железы (РМЖ), метастазированию, возникновению рецидивов и лекарственной устойчивости. Целью нашей работы был поиск дифференциально экспрессирующихся (ДЭ) длинных некодирующих РНК (днРНК) и определение осей днРНК-микроРНК-мРНК, которые могли бы стать мишенью таргетной терапии.

Поиск ДЭ днРНК осуществляли по Gene Expression Omnibus (GEO2R) и GeneCard по критериям «breast cancer», «gene expression», «EMT», $\log_{2}FC \geq \pm 1$ и $p < 0,05$. МикроРНК выбирали по DIANA-LncBase v3 и RNAInter. Для поиска общих сигнальных путей использовали ncPath и miRPath v.3. Взаимодействие днРНК–мРНК и микроРНК–мРНК подтверждали по LncRRIsearch и miRWalk 2.0.

Ранее нами было экспериментально выявлено снижение экспрессии 30 и увеличение экспрессии 2 днРНК из 84 ассоциированных с РМЖ¹. В настоящей работе проанализировали набор данных

GSE22820 и определили 7 ДЭ днРНК, пересекающихся при экспериментальном и биоинформатическом поиске. GeneCard позволила выбрать ADAMTS9-AS2, HAND2-AS1, HOTAIRM1 и MEG3, задействованные метастазировали. По DIANA-LncBase v3 и RNAInter отобрали микроРНК miR-106a-5p и miR-17-5p, взаимодействующие с ними. Выбранные днРНК и микроРНК регулируют сигнальные пути Hippo, MAPK, Wnt, «адгезивные контакты», «фокальная адгезия», а их потенциальной мишенью является мРНК TCF7L2.

Характеристика взаимодействий днРНК-микроРНК-мРНК, связанных с прогрессированием РМЖ, позволит выявить новые мишени для таргетной терапии и приблизиться к эффективной персонализированной терапии.

Литература

1. Pronina, I. et al., *Med. Sci. Forum* 2023, 21, 7.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-75-00159.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ СИНТЕЗА КАРОТИНОИДОВ В ГЕНОМЕ БАКТЕРИЙ *RHODOCOCCLUS QINGSHENGII* X5

Филиппова А.С.

Лаборатория экологической и медицинской биотехнологии, НИЦ «БиоХимТех», Тульский государственный университет, Россия, 300012, Тула, ул. Ф.Энгельса, д.157
электронная почта: stasya.filippova.01@gmail.com

Каротиноиды – это биологические липофильные пигменты, обладающие антиоксидантными, иммуномодулирующими и противовоспалительными свойствами. Они синтезируются различными организмами, в том числе нефотосинтезирующими бактериями². Эти соединения входят в состав фармацевтических препаратов, используются как натуральные красители в пищевой промышленности и при изготовлении кормов для животных и рыб, применяются в косметических продуктах для защиты кожи от действия свободных радикалов и преждевременного старения¹.

В настоящей работе были идентифицированы гены синтеза каротиноидов в геноме актинобактерий *R. qingshengii* X5. Для идентификации генов были использованы алгоритмы аннотации – NCBI PGAP, RAST Annotation, Prokka – и выравнивания – BLAST и SyntTax. Получено, что на хромосоме закодированы белки, участвующие в синтезе ликопина, γ -каротина и 4-кето- γ -каротина. В процессе анализа было показано, что она несет гены синтеза ликопина – *crtE* (QEX11845.1), *crtI* (QEX08710.1, QEX11846.1, QEX13684.1) и *crtB* (QEX11848.1), организованные в оперон *crtEIB*, что согласуется с литературными данными³. Upstream оперона расположен ген *crtO* (QEX11842.1), участвующий в синтезе кетокаротиноидов. Также в геноме была найдена копия гена ликопинциклазы *CrtL* (QEX11427.1), циклизирующей ликопин до β -каротина через γ -каротин. Имеются сведения об участии в синтезе каротиноидов монооксигеназ цитохрома P450 типов 97A (CYP97A) и 97C (CYP97C)³. Хромосома *R. qingshengii* X5 несет одну копию белка, кодирующего CYP97A.

С использованием методов ТСХ и ВЭЖХ подтвердили продукцию бактериями γ -каротина, 4-кето- γ -каротина и фитоена.

Литература

1. Sundararajan P., Ramasamy S. P., *Sustainable Chemistry and Pharmacy* 2024, **37**, 101353.
2. Sharma C., Kamle M., Kumar P. *Microbiology Research* 2024, **15(3)**, 1670-1689.
3. Zhao Z., Liu Z., Mao X. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2020, **68(43)**, 11895-11907.

Работа выполнена при финансовой поддержке государственного задания FEWG-2024-0003.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ЦИСТЕИНОВЫХ КАТЕПСИНОВ ПРИ АПОПТОЗЕ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПОЧКИ ЧЕЛОВЕКА

Фролова А.С.^а, Гороховец Н.В.^а, Чепикова О.Е.^а, Савватеева Л.В.^а, Замятнин А.А. (мл)^{а,б,в}

^а ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет),
Россия, 119435, Москва, Малая Пироговская, 20, с.1,
электронная почта: frolanasta@gmail.com

^б Факультет биоинженерии и биоинформатики, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, 119991

^в НИИ Физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ, Россия, 119992, Москва

Цистеиновые катепсины — протеолитические ферменты, участвующие в различных процессах, в том числе при апоптозе^{1,2}. Мы исследовали их роль при апоптозе эмбриональных и опухолевых клеток почки. Мы установили, что ингибирование катепсинов с помощью специфического необратимого пептидного ингибитора Ac-PLVE-FMK значительно снижает количество апоптотических клеток при камптотетин-индуцированном апоптозе. В динамическом наблюдении за камптотетин-индуцированным апоптозом мы детектировали изменения активности катепсинов и снижение целостности лизосом. Мы также обнаружили увеличение активных форм некоторых катепсинов в процессе апоптоза. Кроме этого, при ингибировании катепсинов наблюдали уменьшение количества клеток с фрагментированной ДНК, что является одним из характерных признаков апоптоза. Возможно это снижение могло быть вызвано действием цистеиновых катепсинов на белки, отвечающие за фрагментацию ДНК, например, ингибитор нуклеазы iCAD³. Результаты показали, что совместная гиперэкспрессия iCAD и катепсина L приводит к снижению количества iCAD. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что цистеиновые катепсины в разной степени участвуют при камптотетин-индуцированном апоптозе в эмбриональных и опухолевых клетках почки. К тому же мы обнаружили, что ингибитор нуклеазы iCAD является субстратом катепсина L. Результаты сравнения форм цистеиновых катепсинов в эмбриональных и опухолевых клетках почки человека при камптотетин-индуцированном апоптозе могут иметь важное значение для разработки новых терапевтических стратегий в области онкологии.

Литература

1. Yadati, T., Houben, T., Bitorina, A. & Shiri-Sverdlov, R. The Ins and Outs of Cathepsins: Physiological Function and Role in Disease Management. *Cells* vol. 9 at <https://doi.org/10.3390/cells9071679> (2020).
2. Chwieralski, C. E., Welte, T. & Bühling, F. Cathepsin-regulated apoptosis. *Apoptosis* vol. 11 143–149 at <https://doi.org/10.1007/s10495-006-3486-y> (2006).
3. Enari, M. *et al.* A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. *Nature* **391**, 43–50 (1998).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 21- 75-30020.

НОВЫЙ МЕХАНИЗМ ЗАЩИТЫ ГЕНОМА ВИРУСА ГЕПАТИТА В ОТ ПРОТИВОВИРУСНЫХ ФАКТОРОВ

Фролова А.С.^а, Брезгин С.А.^а, Костюшева А.П.^а, Пономарева Н.И.^{а,б},
Тихонов А.С.^а, Качанова А.В.^а, Гегечкори В.И.^б, Гоптарь И.А.^а, Соколова Д.В.^в,
Бабаева Г.^в, Покровский В.С.^{в,г}, Лукашев А.Н.^а, Чуланова В.П.^д, Костюшев Д.С.^{а,е}

^а ИМП и ТМ им. Е.И. Марциновского, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет),
Россия, 119435, Москва, Малая Пироговская, 20, с.1

^б Кафедра фармацевтической и токсикологической химии, Сеченовский Университет, Россия, 119146

^в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, Москва, 115478

^г РУДН, Россия, Москва, 117198

^д Кафедра инфекционных болезней, Сеченовский Университет, Россия, Москва, 119146

^е Факультет биоинженерии и биоинформатики, МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва, 119991

электронная почта: frolanasta@gmail.com

Вирус гепатита В (ВГВ) инфицирует гепатоциты человека и может вызывать хроническое заболевание печени¹. Одобренные лекарственные препараты подавляют репликацию вируса, но не способны удалить инфекцию из зараженных клеток. Одним из перспективных направлений в разработке препаратов для лечения ВГВ-инфекции является разрушение его внутриядерного генома — кольцевой ковалентно замкнутой ДНК (ккзДНК). Внутриклеточные ферменты цитидин-дезаминазы АРОВЕС/AID

– единственные естественные факторы, которые могут мутировать и вызывать разрушение ккзДНК. В нашем исследовании мы обнаружили, что ВГВ препятствует действию АР0ВЕС/АID на ккзДНК за счет «мишеней-приманок» в виде кольцевых частично двуцепочечных ДНК (кчдДНК). Представленность кчдДНК в сотни раз выше, чем ккзДНК, при этом одноцепочечная структура участков кчдДНК является приоритетной мишенью для цитидин-дезаминаз в сравнении с двуцепочечной ккзДНК. Мы показали, что снижение уровней кчдДНК усиливает мутацию ккзДНК ферментами АР0ВЕС/АID. Мы также впервые продемонстрировали, что цитидиндезаминаза АЗА упаковывается в вирионы ВГВ. Полученные результаты демонстрируют новый механизм уклонения ВГВ от действия внутриклеточного противовирусного ответа за счет нейтрализации АР0ВЕС/АID «мишенями-приманками» в виде кчдДНК.

Литература

1. Yuen, MF., Chen, DS., Dusheiko, G. et al. Hepatitis B virus infection. *Nat Rev Dis Primers* 4, 18035 (2018). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.35>
2. Baumert, T. F., Rösler, C., Malim, M. H. & Von Weizsäcker, F. Hepatitis B virus DNA is subject to extensive editing by the human deaminase АР0ВЕС3С. *Hepatology* 46, 682–689 (2007).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 22-75-10032.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования РФ 075-01551-23-00 (ФССП-2023-0006) и программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030» (Сеченовский университет).

МОДИФИКАЦИЯ М²G72 В МЯРНК U6 ПОД ДЕЙСТВИЕМ THUMP2: ПОСЛЕДСТВИЯ ДЛЯ КЛЕТОЧНОЙ ФИЗИОЛОГИИ

Хохлова М.А.^а, Болихова А.К.^{а,б}, Иззи А.Р.^а, Марьясина С.С.^а, Донцова О.А.^{а,б}, Сергиев П.В.^{а,б}

^аМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, электронная почта: khokhlovama@ty.msu.ru

^бЦентр молекулярной и клеточной биологии Сколковского института науки и технологий, Большой бульвар. 30, Сколково, Московская область, 143025, Россия.

Сплайсинг – важнейший этап процессинга и созревания мРНК, в ходе которого из последовательностей транскрипта вырезаются интроны, а экзоны сшиваются между собой. Сплайсинг осуществляет сплайсосома – динамичный комплекс малых ядерных рибонуклеопротеидов (мяРНП) U1, U2, U4, U5 и U6, в каждом из которых каталитическим ядром выступает соответствующая мяРНК.

Для правильной работы сплайсосомы необходима регуляция каталитической активности мяРНК, которая обеспечивается различными посттрансляционными модификациями. Одну из таких модификаций осуществляет SAM-зависимая метилтрансфераза THUMP2.

Мишень THUMP2 – 72-й гуанозин в составе мяРНК U6. Модификация m²G72 локализуется в активном центре сплайсосомы и, согласно недавним исследованиям, усиливает процессинг пре-мРНК. Также THUMP2 взаимодействует с TRMT112 (кофактор большого числа метилтрансфераз рРНК, рРНК и белков) и участвует в регуляции клеточной пролиферации.

В данной работе мы изучили локализацию фермента THUMP2 и подтвердили отсутствие модификации при нокауте гена. Исследование показало, что нокаут THUMP2 влияет на число телец Кахаля в клетке. У мышей с нокаутом гена наблюдается повышение экспрессии провоспалительных генов и увеличивается общее число клеток Купфера в печени.

Данное исследование углубляет наше понимание молекулярных механизмов, отвечающих за регуляцию сплайсинга, и их связь с фенотипическими характеристиками.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 21-64-00006.

ОЦЕНКА ИММУНОГЕННОСТИ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИГЕНОВ В СОСТАВЕ КАНДИДАТНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ COVID-19 НА ОСНОВЕ ВИРУСОВ РАСТЕНИЙ

Цыбина А.А.^а, Коваленко А.О.^а, Рябчевская Е.М.^а, Евтушенко Е.А.^а, Никитин Н.А.^а, Карпова О.В.^а

^аМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1
электронная почта: annasa731@gmail.com

Для борьбы с коронавирусной инфекцией, которая стала причиной пандемии, поразившей мир в 2020 году, было разработано множество вакцин, различающихся используемыми антигенами, способами их доставки и адъювантами. Различные адъюванты используются в рекомбинантных белковых вакцинах с целью увеличить их эффективность¹. На кафедре вирусологии биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова был разработан вакцинный кандидат, содержащий три рекомбинантных антигена (Co1, PE и CoF), включающих участки S-белка коронавирусов, и сферические частицы вируса табачной мозаики (СЧ ВТМ) в качестве адъюванта. Целью данной работы являлась характеристика иммунного ответа на антигены вакцинного кандидата против SARS-CoV-2. Одну группу мышей иммунизировали смесью трех рекомбинантных коронавирусных антигенов (60 мкг) без добавления адъюванта, другой группе вводили такую же дозу антигенов (60 мкг) в композиции с СЧ (250 мкг). Контрольная группа состояла из неиммунизированных животных. В сыворотках крови животных, проиммунизированных обоими вариантами вакцинного кандидата, наблюдалась достоверная разница в титрах антител к каждому антигену по сравнению с титрами антител в сыворотках неиммунизированных животных. В случае антигенов PE и CoF в присутствии СЧ значительно повышаются титры антител к соответствующему антигену по сравнению с титрами антител в сыворотках животных, иммунизированных смесью индивидуальных антигенов. Полученные результаты позволяют рассматривать антигены Co1, PE и CoF в композиции с адъювантом на основе СЧ ВТМ в качестве перспективного вакцинного кандидата против COVID-19.

Литература

1. Sarkar I., et al. Selection of adjuvants for vaccines targeting specific pathogens. *Expert Rev Vaccines* 2019, **18**, 505-521.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-14-00032.

СОЗДАНИЕ ЛИНИИ КЛЕТОК ARPE-19 ЧЕЛОВЕКА, НОКАУТНОЙ ПО ГЕНУ ABCA4

Черный Н.В.

*Институт медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е. И. Марциновского Клинического центра Первого Московского государственного медицинского университета имени И. М. Сеченова
Россия, 119435, Москва, Малая Пироговская ул., 20, стр. 1,
электронная почта: black.0513@mail.ru*

Ретинопатия Штаргардта – это наследственная форма макулярной дегенерации, вызванная мутациями в гене ABCA4 и характеризующаяся накоплением богатых липидами отложений в пигментном эпителии сетчатки (RPE), атрофией RPE и гибелью фоторецепторных клеток¹. В работе Cell-autonomous lipid-handling defects in Stargardt iPSC-derived retinal pigment epithelium cells в 2022 году было показано, что нокаут ABCA4 и индуцированный плюрипотентный пигментный эпителий сетчатки, полученный из стволовых клеток (STGD1-iRPE) у пациентов с болезнью Штаргардта, дифференцируются нормально, но демонстрируют внутриклеточные отложения липидов и керамидов, характерные для фенотипа заболевания².

Цель проекта – создание с помощью системы CRISPR-Cas линии клеток ARPE-19 человека, нокаутной по ABCA4 гену. Данная линия клеток будет служить моделью для апробации генной терапии с помощью вектора на основе аденоассоциированного вируса (AAV), направленной на лечение ретинопатии Штаргардта путём внесения нормального гена ABCA4.

Помимо фундаментально научного интереса, создание модельной клеточной линии открывает

дорогу к персонализированному подходу к лечению генетических заболеваний сетчатки человека. Этот подход позволит лучше понять причины развития генетических болезней. Мы рассмотрим процесс создания вектора системы редактирования на основе CRISPR-Cas и проведение трансфекции клеток ARPE-19.

Литература

1. Molday RS, Garces FA, Scortecchi JF, Molday LL. Structure and function of ABCA4 and its role in the visual cycle and Stargardt macular degeneration. *Prog Retin Eye Res.* 2022 Jul;89:101036. doi: 10.1016/j.preteyeres.2021.101036.
2. Farnoodian M, Bose D, Khristov V, Susaimanickam PJ, Maddileti S, Mariappan I, Abu-Asab M, Campos M, Villasmil R, Wan Q, Maminishkis A, McGaughey D, Barone F, Gundry RL, Riordon DR, Boheler KR, Sharma R, Bharti K. Cell-autonomous lipid-handling defects in Stargardt iPSC-derived retinal pigment epithelium cells. *Stem Cell Reports.* 2022 Nov 8;17(11):2438-2450. doi: 10.1016/j.stemcr.2022.10.001.

ВЛИЯНИЕ СЕМАГЛУТИДА НА ЛПС-СТИМУЛИРОВАННЫЙ ОТВЕТ АСТРОЦИТОВ

Чистяков В.В.^а, Горбатенко В.О.^а, Горяинов С.В.^б, Чистяков Д.В.^{б,в}, Сергеева М.Г.^в

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, с. 73, электронная почта: chistvas@gmail.com

^б Российский университет дружбы народов, Россия, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6, ^в НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, с. 40.

Семаглутид (SEM) – аналог глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1), широко используемый препарат для лечения сахарного диабета 2 типа, который недавно был одобрен FDA для контроля веса. Имеются данные об эффективности семаглутида как противовоспалительного агента в клетках микроглии (линия BV2). Астроциты являются важными участниками нейровоспаления, экспрессируют ГПП-1 рецептор, поэтому мы оценили влияние SEM на воспалительный ответ первичных астроцитов крысы, индуцированный липополисахаридом (ЛПС). Клетки инкубировали с различными концентрациями SEM (0.9 – 18 мкМ) в течение 30 минут или 24 часов, и далее стимулировали ЛПС (100 нг/мл) в течение 4 часов. Оценивалось изменение экспрессии провоспалительных генов (TNF- α , IL-6, IL-1 β) методом ПЦР в реальном времени и высвобождение липидных медиаторов воспаления – оксипинов, производных полиненасыщенных жирных кислот методом ВЭЖХ-МС/МС. Обработка клеток ЛПС приводила к выраженному про-воспалительному действию, и увеличению экспрессии генов-маркеров воспаления, и к значимому увеличению синтеза оксипинов, в первую очередь производных арахидоновой кислоты, образующихся по циклооксигеназному пути биосинтеза. Предварительная инкубация клеток с семаглутидом не повлияла на ЛПС-стимулированный клеточный ответ в тестируемых концентрациях. Полученные результаты позволяют заключить, что SEM не влияет на ответы астроцитов на действие провоспалительного стимула, что может отражать особенности регуляции воспаления на клетках эктодермального происхождения.

Работа выполнена в рамках проекта №214853-2-000 системы грантовой поддержки научных проектов РУДН.

ЭЛЕМЕНТЫ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ РЕГУЛЯЦИИ FOLN1 – ТКАНЕ- И ОПУХОЛЕСПЕЦИФИЧНОГО МАРКЕРА ПРОСТАТЫ

Шафиков Р.Р.^а, Пряхина Е.В.^б, Скворцов Д.П.^{а,в}, Глушков А.Г.^в, Скворцов Д.А.^в

^а ФГБУ НЦ РФ ИБХ им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, Москва, 117997, Россия,

^б Факультет биологии и биотехнологии, НИУ ВШЭ, ул. Профсоюзная, д.33, к.4, Москва, 117418, Россия,

^в Факультет биоинженерии и биоинформатики, Биотехнологический и Химический факультеты МГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, Москва, 119992, Россия, электронная почта: denis.skvortsov.sci@gmail.com

Исследование регуляторов экспрессии маркеров опухолей способствует лучшему пониманию функционирования регуляторных каскадов, обуславливающих онко- и тканеспецифичность.

Мы сфокусировались на маркере простаты и рака PSMA, широко используемом в тераностике. Несмотря на терапевтическую ценность PSMA, регуляция экспрессии кодирующего его гена *FOLH1* недостаточно изучена. Суммарный вклад известных регуляторов – AR, ER, SOX7, HXB13 – не объясняет разницу в экспрессии между опухолью и нормой, а также простатой и другими органами.

Мы экспериментально проверили роль выбранных при анализе транскриптомных данных простаты потенциальных регуляторов транскрипции *FOLH1* – HXB13, FOXA1, CREB3L4, NKX3.1, SPDEF – в клеточных линиях с андроген-чувствительностью (LNCaP, 22Rv1) и без нее (PC-3). Показано, что CREB3L4 репрессор транскрипции *FOLH1*, SPDEF активирует транскрипцию. NKX3.1 является слабым активатором экспрессии *FOLH1* в 22Rv1 и PC3, но слабым репрессором в LNCaP. HXB13 и FOXA1 способствуют транскрипции *FOLH1* в андроген-чувствительных линиях LNCaP и 22Rv1, но подавляют в андроген-независимой PC3. До этого для HXB13 влияние было изучено только в андроген-чувствительных клетках. В ходе исследования регулона *FOLH1* мы также обратили внимание на транскрипционный фактор MAZ, влияющий на HXB13: нокадаун MAZ понижает уровень *FOLH1* в LNCaP и PC3, но повышает в 22Rv1.

Вместе с уже известными регуляторами проверенные нами объясняют значительную часть онко- и тканеспецифичности экспрессии *FOLH1*.

Литература

1. Bakht., et al., *Nat Rev Urol* 2024, 22, 26–45.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 24-15-00097.

СИГНАЛЬНЫЕ КАСКАДЫ ГЛАУКОМНОЙ НЕЙРОПАТИИ: РОЛЬ ИОНОВ ЦИНКА

Шебардина Н.Г., Балдин А.В., Тюлина В.В., Сенин И.И., Бакшеева В.Е., Чистяков Д.В., Зерний Е.Ю.

*НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 73
электронная почта: natuskasheb@gmail.com*

Глаукома представляет собой оптическую нейропатию, чаще всего обусловленную хронической внутриглазной гипертензией с последующей гибелью ганглиозных нейронов сетчатки (ГНС). По последним данным, медиатором апоптоза ГНС могут быть ионы «мобильного» (сигнального) цинка. Работа посвящена выявлению цинк-зависимых каскадов, опосредующих нейродегенерацию сетчатки при глаукоме. В качестве модели нейронов сетчатки использовалась линия ретинобластомы человека Y79. С применением клеточных тестов и проточной цитометрии продемонстрированы цитотоксические эффекты цинка, охарактеризованы динамика и механизмы гибели клеток Y79. Молекулярный фишинг в экстрактах сетчатки животных с идентификацией методом масс-спектрометрии выявил кандидатные белки, способные опосредовать сигналы цинка. В качестве основного из таких белков идентифицирован фермент ALDH1A1 – центральный компонент каскада ретиноевой кислоты (ПК), регулирующего экспрессию генов в сетчатке. Методами иммуноблоттинга и таргетной липидомики зафиксировано увеличение продукции ALDH1A1 и ПК в клетках в ответ на цинковый стресс. Подавление экспрессии этого фермента с помощью РНК-интерференции придает клеткам Y79 устойчивость к цитотоксическому действию цинка. Транскриптомный анализ Y79 в условиях цинкового стресса показал рост экспрессии транспортёров этого металла и белков-шаперонов, за которым следует ингибирование продукции нейротропных факторов и стимулирование апоптозных путей. Указанные процессы связаны с активацией ПК-зависимых генов, в частности, транскрипционного фактора EGR1, который играет важную роль в регуляции пролиферации и апоптоза нейронов сетчатки. На основании полученных данных высказано предположение, что чувствительность ГНС к цинковому стрессу может быть обусловлена влиянием цинка на каскад ретиноевой кислоты, тогда как ALDH1A1 может стать перспективной мишенью для терапии глаукомы.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проекты 21-15-00123, 24-15-00171.

ВЫШЕЛЕЖАЩАЯ ОТКРЫТАЯ РАМКА СЧИТЫВАНИЯ РЕГУЛИРУЕТ ТРАНСЛЯЦИЮ МАТРИЧНОЙ РНК MCRS1 И КОДИРУЕТ ВЫСОКОКОНСЕРВАТИВНЫЙ ПЕПТИД

Шепелев Н.М.^{а,б}, Деменева У.И.^а, Суспицина А.Д.^а, Балтин С.М.^а,
Афанасьева А.А.^а, Донцова О.А.^{а,б,в}, Рубцова М.П.^{а,б}

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1,
электронная почта: nikita.shepelev96@gmail.com

^б Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук,
Россия, 117997, Москва, Миклухо-Маклая, д. 16/10

^в Центр молекулярной и клеточной биологии Сколковского института науки и технологий,
Большой бульвар. 30, Сколково, Московская область, 143025, Россия,

Экспрессия генов регулируется на нескольких этапах, в том числе на уровне трансляции РНК. Одним из ключевых элементов, обеспечивающих контроль трансляции, являются вышележащие открытые рамки считывания (uORF)^{1,2}, обнаруженные примерно в 50% матричных РНК позвоночных³. Несмотря на это, подробные исследования uORF ограничены несколькими примерами, что затрудняет механистическое понимание их функции. В данном исследовании мы рассмотрели главную изоформу транскрипта гена *MCRS1* человека, содержащую несколько uORF, одна из которых необходима для жизнеспособности клеток. Эта uORF значительно подавляет трансляцию основной белок-кодирующей области, при этом способствует частичному восстановлению трансляции в условиях различных стрессов. Сравнительный анализ последовательностей показал высокую консервативность кодируемого uORF пептида среди плацентарных млекопитающих, что указывает на его функциональную значимость. Таким образом, данная uORF играет двойную роль: она регулирует синтез белка *MCRS1* и кодирует функциональный пептид. Эти функции сложно разделить, поскольку точечные мутации могут одновременно нарушать обе. Полученные результаты могут быть полезны в синтетической биологии для разработки полицистронных трансгенных конструкций с точной регуляцией экспрессии.

Литература

1. Calvo S.E., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2009, **106**, 7507-7512.
2. Andreev D.E., et al., *Genome Biology* 2022, **23**, 111.
3. McGeachy A.M., et al., *The EMBO Journal* 2016, **35**, 699-700.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-14-00058.

УЧАСТИЕ КЛЕТОЧНЫХ ГИСТОНДЕАЦЕТИЛАЗ КЛАССОВ I И II В РАННИХ ЭТАПАХ РЕПЛИКАЦИИ ВИЧ-1

Шехтман С.П.^а, Агапкина Ю.Ю.^{а,б}, Готтих М.Б.^{а,б}

^а Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, с. 3

^б НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, с. 40
электронная почта: sofia.shekhtman@chemistry.msu.ru

В связи с актуальной проблемой развития резистентности вируса иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ-1) к препаратам, используемым в высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ), важной задачей является поиск новых мишеней для подавления репликации вируса. Перспективными мишенями могут стать белки клетки-хозяина, участвующие в репликативном цикле ВИЧ-1 посредством взаимодействия с вирусными белками, например, с интегразой.

Известно, что одним из клеточных партнеров интегразы является фермент HDAC1¹, принадлежащий к первому классу гистондеацетилаз. Гистондеацетилазы выполняют функцию деацетилирования гистонов, что регулирует экспрессию различных генов, включая вирусные. Ряд исследований демонстрирует влияние уровня гистондеацетилаз на репликацию ВИЧ-1^{2,3}. В большинстве работ показано, что гистондеацетилазы первого класса являются положительными регуляторами репликации вируса, однако механизмы такого влияния остаются недостаточно изученными.

Для выяснения этого механизма в настоящей работе были использованы ингибиторы HDAC1, HDAC2

и HDAC3 (класс I), а также HDAC6 (класс IIb). Показано, что ингибирование гистондеацетилаз класса I приводит к увеличению уровня репликации вируса, при этом наиболее выраженный эффект наблюдался при использовании ингибитора, избирательно действующего на HDAC3. В то же время ингибирование HDAC6 не оказало значимого влияния на уровень репликации. Эксперимент «time of drug addition», в ходе которого ингибитор добавляли на разных этапах жизненного цикла вируса, показал, что ингибитор HDAC3, преимущественно влияет на стадию обратной транскрипции ВИЧ-1.

Литература

1. Larguet F. et al. *Virology J.* 2019, **16**, 1-17.
2. Allouch A. et al. *Cell host & microbe* 2011, **9** (№6), 484-495.
3. Sorin M. et al. *PLoS pathogens* 2009, **5** (№. 6), e1000463.

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В.Ломоносова.

ПОИСК НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ИНГИБИТОРОВ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА KLHL С ИХ СУБСТРАТАМИ МЕТОДАМИ МОЛЕКУЛЯРНОГО ДОКИНГА

Шиловский Г.А.^а, Диброва Д.В.^а, Коковихина А.А.^б, Гордеев К.В.^в

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1.
электронная почта: gregory_sh@list.ru

^б Ижевский государственный технический университет имени М.Т. Калашникова, Россия, 426069, Ижевск, Студенческая ул., 7.

^в Кубанский государственный медицинский университет Министерства Здравоохранения Российской Федерации, Россия, 350063, Краснодар, Митрофана Седина, 4.

Белки семейства KLHL, функционирующие в качестве субстратных адаптеров в составе Cullin 3-RING убиквитинлигаз, играют ключевую роль в регуляции убиквитинирования ряда белков, направляя их на деградацию через систему убиквитин-протеасомой, и тем самым оказывают влияние на клеточный цикл, апоптоз и иные процессы. В этой связи белки семейства KLHL рассматриваются как перспективные мишени для разработки лекарственных средств^{1, 2}. Наша работа посвящена направленному поиску ингибиторов взаимодействий KLHL белков с их субстратами при помощи метода молекулярного докинга. Для исследования мы выбрали в качестве мишеней несколько ключевых представителей семейства KLHL человека, включая Keap1 (KLHL19). Мы использовали известные структуры этих белков из базы данных RCSB PDB. В качестве мишени докинга рассматривались сайты связывания, ответственные за взаимодействие белков семейства KLHL с их субстратами. Мы использовали базу данных малых молекул Maybridge fragment library для проведения виртуального скрининга, включая производные известных ингибиторов. Охарактеризованы соединения, демонстрирующие наиболее высокое сродство к сайтам связывания белков-субстратов белками семейства KLHL, подтвержденное расчетами свободной энергии связывания. Таким образом, наше исследование представляет собой первый шаг к поиску новых ингибиторов белков семейства KLHL, потенциальный терапевтический эффект которых еще предстоит оценить.

Литература

1. Duan H. et al. Cullin-3 proteins be a novel biomarkers and therapeutic targets for hyperchloremia induced by oral poisoning // *Sci. Rep.* – 2024. – vol. 14. - P. 8597.
2. Shi X. et al. Kelch-like proteins: Physiological functions and relationships with diseases // *Pharmacol. Res.* – 2019. – vol. 148. – P. 104404.

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова.

РАЗРАБОТКА ЦИНК-НЕЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ ФОРМЫ ФАКТОРА ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ СЕТЧАТКИ

Шишкин М.Л.^{а,б}, Гороховец Н.В.^б, Мишин А.В.^в, Борщевский В.И.^в, Зерний Е.Ю.^а

^а Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,
Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40, электронная почта: mikhshishkin@gmail.com

^б Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, лаборатория молекулярной биологии и биохимии, Москва

^в Московский физико-технический институт (НИУ), Долгопрудный

Нейродегенерация при глаукоме связана с подавлением нейротропной активности за счет эффектов мобильного цинка. Мишенью является фактор пигментного эпителия сетчатки (PEDF), действие которого блокируется за счет связывания цинка и образования димерных и тримерных структур, что приводит к маскированию рецептор-связывающих участков белка. Настоящая работа посвящена конструированию и испытанию модифицированных форм PEDF, лишенных чувствительности к ионам цинка, с целью их последующего использования для компенсации нейротропной активности в сетчатке. Методами молекулярного клонирования и сайт-направленного мутагенеза созданы генетические конструкции для экспрессии мутантов PEDF с заменами остатков гистидина, критичных для координации цинка. Экспрессия в бактериальной системе и выделение из бактериальных лизатов с применением аффинной и ионообменной хроматографии позволили получить однородные препараты мутантных белков. Методами дифференциальной сканирующей флуориметрии и динамического рассеивания света охарактеризованы их цинк-связывающие свойства и четвертичная структура. Показано, что введенные замены частично или полностью подавляют способность PEDF связывать ионы цинка. При этом мутант, полностью лишенный чувствительности к цинку, теряет склонность к патологической олигомеризации. Полученные формы PEDF являются перспективными кандидатами для терапии, поскольку будут сохранять нейротропную активность в условиях глаукомной нейропатии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проекты 21-15-00123, 24-15-00171.

ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА PARP НА РЕПЛИКАЦИЮ ВИЧ-1

Шулепова А.А.^{а,б}, Королев С.П.^{а,б,в}, Белова У.Д.^{а,б}, Розина А.А.^{а,б}, Анисенко А.Н.^{а,б,в}, Готтих М.Б.^{б,в}

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, 119234, Москва, Россия
электронная почта: a192s@mail@gmail.com

^б Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского, 119992, Москва, Россия

^в Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, 119991, Москва, Россия

При борьбе с пандемией ВИЧ-1 создано множество лекарственных препаратов, направленных на подавление активности вирусных ферментов. Поиск таких соединений продолжается, но для преодоления развития вирусной резистентности становится актуальной разработка ингибиторов взаимодействия вирусных белков с клеточными белками-партнерами. Перспективной мишенью в таких исследованиях является вирусная интеграза. Ранее в нашей лаборатории методом кросс-линкинга эктопически экспрессированной интегразы с клеточными белками и коиммунопреципитации белковых комплексов было обнаружено взаимодействие интегразы с клеточным белком PARP1, участвующим в репарации повреждений ДНК. Для изучения роли этого белка в жизненном цикле вируса был использован ингибитор активности PARP1 – олапариб. Обнаружено дозозависимое снижение эффективности репликации вируса при добавлении ингибитора. Установлено, что олапариб снижает эффективность постинтеграционной репарации и не влияет на обратную транскрипцию и интеграцию. Однако, этот результат не позволяет сделать однозначный вывод о влиянии PARP1 на репликацию ВИЧ-1, потому что мишенями олапариба, кроме PARP1, являются также белки PARP2 и PARP3. Для изучения роли трёх белков PARP в репликации ВИЧ-1 было решено получить соответствующие нокаутные линии. На данный момент удалось получить клоны с пониженным внутриклеточным содержанием PARP1 и/или PARP2. Показано, что эффективность репликации вируса в этих клонах понижена, причем наибольшее снижение достигается при понижении уровня обоих белков. Установлено также, что добавление ингибитора фермента PARG, обладающего депарилирующей активностью, повышает эффективность репликации ВИЧ-1.

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В.Ломоносова.

ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ, ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА МУЖСКУЮ ФЕРТИЛЬНОСТЬ

Щербакова Е.А.

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)
Россия, 119048, Москва, Трубецкая улица, 8, стр. 2
электронная почта: shchal123@mail.ru

В работе проведен анализ влияния экологических, генетических и поведенческих факторов на мужскую фертильность, с акцентом на генетические механизмы регуляции сперматогенеза. Исследование основано на интеграции данных GWAS, секвенирования и рецензируемых публикаций (PubMed, ScienceDirect). Особое внимание уделено генам DAZ, SYCP3, KITLG и TEX11, вовлеченным в регуляцию мейоза и формирования сперматозоидов.

Для анализа использованы данные из международных биоинформатических баз (ENSEMBL, dbSNP, ClinVar), мета-анализ популяционных исследований, а также многомерный статистический анализ для выявления закономерностей взаимодействий экологических и генетических факторов.

Средняя концентрация сперматозоидов снизилась с 90 млн/мл в 1970-х годах до менее 40 млн/мл в 2010-х (Carlsen et al., 1992; Levine et al., 2017). Воздействие свинца (>10 мкг/дл) и возраст старше 40 лет дополнительно уменьшают этот показатель на 10–15 млн/мл ($p < 0.05$, множественная линейная регрессия).

Проанализировано влияние мутаций de novo, возникающих в герминативных клетках под воздействием мутагенов (фталаты, пестициды). Выявлены варианты в промоторных областях DAZ и SYCP3, изменяющие регуляцию экспрессии генов, что коррелирует со снижением подвижности сперматозоидов ($p = 0.02$, Spearman rank test).

Полученные данные подтверждают вклад экологических токсикантов и генетической предрасположенности в снижение мужской фертильности. Разработанные модели риска позволяют прогнозировать репродуктивную функцию на индивидуальном уровне.

Предложенные профилактические меры включают мониторинг воздействия эндокринных дизрапторов, генетический скрининг и персонализированные стратегии коррекции образа жизни.

Литература:

1. Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for Decreasing Quality of Semen During Past 50 Years. *BMJ*. 1992
2. Levine H, Jørgensen N, Martino-Andrade A, et al. Temporal Trends in Sperm Count: A Systematic Review and Meta-Regression Analysis. *Human Reproduction Update*. 2017.

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОНУКЛЕАЗНОЙ И ХЕЛИКАЗНОЙ АКТИВНОСТЕЙ БЕЛКА WRN НА РАННИЕ ЭТАПЫ РЕПЛИКАЦИИ ВИЧ-1

Щигал О.Е.^{а,б}, Лиференко А.Н.^а, Королев С.П.^{а,б,в}, Анисенко А.Н.^{а,б,в}, Готтих М.Б.^{б,в}

^аМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, 119234, Москва, Россия
электронная почта: olga.stchigal@gmail.com

^бМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского, 119992, Москва, Россия

^вМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, 119991, Москва, Россия

Репликация ВИЧ-1 зависит от различных клеточных белков, среди которых есть как позитивные факторы репликации, так и факторы рестрикции. По результатам скрининга нами было показано негативное влияние на репликацию ВИЧ-1 хеликазы синдрома Вернера (WRN), которая принадлежит к семейству RecQ и обладает хеликазной и экзонуклеазной активностями. WRN участвует в репликации и репарации ДНК, регуляции длины теломер, активации белка p53, обеспечивая стабильность клеточного генома. Кроме того, в ходе CRISPR-Cas9-скрининга нокаут факторов репарации нами было установлено, что WRN-ассоциированный белок (WRNIP1) является положительным фактором ВИЧ-1.

Нокдаун WRN приводит к повышению уровня вирусной кДНК, что позволяет предположить, что WRN либо снижает стабильность синтезируемой кДНК, либо напрямую влияет на активность обратной транскриптазы. С целью проверить, может ли хеликазная или экзонуклеазная активность WRN напрямую влиять на ранние этапы репликации ВИЧ-1, на базе клеток HEK293T получены линии с индуцибельной экспрессией каталитически активного WRN или его мутантов с нарушенной экзонуклеазной или хеликазной активностями, устойчивых к siRNA к WRN. Экспрессия любого из вариантов экзогенного WRN в трех клеточных линиях, на фоне подавленного эндогенного WRN, приводила к снижению эффективности репликации лентивируса на основе ВИЧ-1 до контрольного уровня. Следовательно, ни хеликазная, ни экзонуклеазная активность не влияют на способность WRN ингибировать ранние этапы репликации ВИЧ-1.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 25-24-00167.

КОРОТКИЕ ПЕПТИДЫ TAG7 РЕГУЛИРУЮТ TREM-1-ЗАВИСИМУЮ ПРОТИВООПУХОЛЕВУЮ АКТИВНОСТЬ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ ЛИМФОЦИТОВ

Юркина Д.М., Щербаков К.А., Романова Е.А., Творогова А.В., Яшин Д.В., Сащенко Л.П.

*Институт биологии гена РАН,
Россия, 119334, Москва, Вавилова д. 34/5,
электронная почта: yurkina.genebiology@ya.ru*

Провоспалительный иммунный ответ играет важную роль в защите организма от патогенов и опухолей. Рецептор врожденного иммунитета TREM-1 участвует в индукции экспрессии генов провоспалительных цитокинов и активирует цитотоксические лимфоциты, убивающие опухолевые клетки. Взаимодействие внеклеточного домена TREM-1 с лигандом приводит к активации рецептора, заключающейся в его димеризации¹. В ИБГ РАН был охарактеризован 24-членный пептид N3, расположенный в N-концевом участке полипептидной цепи Tag7, ответственный за активацию цитотоксических лимфоцитов².

Целью данного исследования было 1) выявить эпитопы пептида N3; 2) исследовать способность этих пептидов стимулировать цитотоксическое действие лимфоцитов; 3) исследовать взаимодействие этих пептидов с TREM-1 с помощью математической модели.

Были синтезированы пептидные фрагменты Tag7, соответствующие эпитопам пептида N3. Методом микромасштабного термофореза детально исследовали аффинность взаимодействия этих пептидов с рецептором TREM-1 в растворе. Взаимодействие этих пептидов на клеточной поверхности было исследовано с помощью конфокальной микроскопии. Далее оценивали появление s-TREM-1 в кондicionной среде.

Одновременное добавление пептидов N9 и N15 к PBMC активирует цитотоксические лимфоциты, которые индуцируют апоптоз и некроптоз в опухолевых клетках. Молекулярный докинг выявил нужные для различных функций пептидов аминокислотные остатки, что предоставляет важные знания для понимания механизма активации данного рецептора, а также может послужить основой для разработки терапевтических препаратов для регуляции его активности в терапии аутоиммунных и опухолевых заболеваний.

Литература

1. J. Klesney-Tait et al., *Nat. Immunol.* 2006, **7**, 1266-1273.
2. Sharapova T.N. et al., *Int. J. Mol. Sci.* 2022, **23**, 5752.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 23-14-00076.

ВИРТУАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ НОВЫХ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ ЭПОКСИДАЗЫ CYP15A1 НАСЕКОМЫХ

Яковец П.С.^{а,б}, Фалетров Я.В.^{а,б}

^а Белорусский государственный университет, Беларусь, 220006, Минск, ул. Ленинградская, д. 14,
^б Учреждение БГУ «НИИ физико-химических проблем», Беларусь, 220006, Минск, ул. Ленинградская, д. 14,
электронная почта: yakov.polina.42@gmail.com.

Эпоксидаза CYP15a1 является интересной мишенью для разработки новых регуляторов роста насекомых (PPH), а соединения, содержащие алкиновый фрагмент, могут выступать как потенциальные ингибиторы CYP15a1¹. Лигандами для виртуального скрининга с использованием Autodock Vina со вспомогательным инструментом FYTdock² были выбраны 40 структур соединений из лекарственных и пищевых растений, содержащих алкиновый или алкеновый фрагмент, а белком-мишенью — 24 модельные структуры CYP15a1 насекомых, созданные с использованием AlphaFold 3.

Мы обнаружили, что 3'-геранилхалконарингенин (Pubchem: CID10070028) из *Humulus lupulus* и ксантоангелол (Pubchem: CID643007) из *Artocarpus altilis*, *Angelica keiskei* связываются со структурой CYP15a1 (UniProt: A0A2J7PVT0) из термитов *Cryptotermes secundus*, вредителей зданий, сельскохозяйственных угодий, с локализацией фенольного фрагмента вблизи гема с энергиями связывания (Есв) -11,4 и -10,9 ккал/моль соответственно. N-изобутил-2,4,8,10,12-тетрадекапентаенамид (Pubchem: CID5318518) из *Zanthoxylum piperitum* связывается с этой структурой CYP15a1 (Есв -8,4 ккал/моль) с ориентацией двойной связи в положении 12 вблизи гема. (2Z,4E)-N-(2-метилпропил)ундека-2,4-диен-8,10-диенамид (Pubchem: CID15609885) из *Echinacea angustifolia*, *Spilanthes* связывается с данной структурой CYP15a1 с ориентацией терминального алкина (Есв -8,0 ккал/моль), а неопеллиторин А (Pubchem: CID636555) из *Artemisia dracuncululus* — с ориентацией тройной связи в положении 9 вблизи гема (Есв -7,9 ккал/моль). Полученные данные позволяют обосновать важность исследований *in vitro* этих природных соединений из лекарственных и пищевых растений как потенциальных ковалентных ингибиторов или субстратов CYP15a1 для разработки новых PPH.

Литература

1. Helvig, C., et al., *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2004, **12**, 101, 4024-4029.
2. Faletrov, Y. V., et al., *Research Square* 2022, DOI:10.21203/rs.3.rs-1456627/v1. (preprint).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта ГПНИ (Беларусь) № 20210560.

РЕПОРТЕРНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ G-КВАДРУПЛЕКСНЫХ СТРУКТУР В ПРОМОТОРНОЙ ОБЛАСТИ ГЕНА *hTERT*

Якушкина Ю.В.^а, Зверева М.Э.^а, Кубарева Е.А.^б, Монахова М.В.^б

^а Химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Россия
^б НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3 и 40,
электронная почта: dddd80486@gmail.com

Теломераза — рибонуклеопротеиновый комплекс, отвечающий за поддержание длины теломер. Обратная транскриптаза теломеразы человека (*hTERT*) является её каталитической субъединицей, и повышенная экспрессия гена *hTERT* в соматических клетках связана с появлением опухоли в большинстве изученных случаев.

Часто возникновение опухолевых заболеваний связывают с мутациями в промоторе *hTERT*. Ранее в промоторной области *hTERT* показано формирование 3 тандемных параллельных G-квадруплексов (G4). Возникновение замен G>A в этой области приводит к реактивации теломеразы, что может быть связано с дестабилизацией G4. Таким образом, стабилизацию G4-структуры в промоторе можно рассматривать как возможный путь снижения экспрессии *hTERT* и роста опухоли.

Целью работы являлось получение плазмидных конструкций, содержащих промоторную область *hTERT*, и определение влияния G4 на экспрессию гена репортёрного белка.

В работе методами молекулярного клонирования получены репортёрные конструкции на основе плазмиды pRFPCER, содержащей гены двух флуоресцентных белков RFP и Cerulean и последовательность центрального G4 промоторной области *hTERT* в 5'-нетранслируемой области гена Cerulean. Доказано образование G4 в плазмидной конструкции методом «остановки» полимеразы. Установлено, что уровень относительной флуоресценции Cerulean/RFP клеток *E. coli*, содержащих репортёрные конструкции, коррелирует со стабильностью G4, находящегося во вставке — чем стабильнее G4, тем меньший уровень относительной флуоресценции наблюдается. Продемонстрировано влияние G4-стабилизирующих лигандов BRACO19, TMPyP4, PhenDC3 на синтез репортёрного белка. Относительная флуоресценция клеток, содержащих репортёрные конструкции, уменьшается с возрастанием концентрации лигандов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 25-24-00161.

Указатель

Латиница

А

Amunts A. 6

Е

Erdenechimeg Ch. 153

F

FranciaF. 23

М

Malogolovkin, A. 137

Moebius K. 23

О

Oloruntimehin, S.E. 137

V

Venturoli G. 23

Кириллица

А

Абдыев В.К. 65

Абрамов В.М. 149

Аверина О.А. 7, 61, 70, 77

Аветисова И.В. 89

Аветисян А.В. 24, 85

Авилова Т.М. 89

Авшалумов А.С. 95

Агапкина Ю.Ю. 161

Агладзе К.И. 119

Агол В.И. 126

Адамович А.М. 89

Азбарова А.В. 27, 96

Айсин К.Н. 27

Акимов М.Г. 30

Алексеева А.И. 129

Алексеева О.Н. 126

Алексеев Е.А. 90

Алехин В.А. 47

Алиева И.Б. 85, 86

Алкалаева Е.З. 94

Алферова В.А. 135

Ананьева Ю.Е. 31

Анашкин В.А. 28

Андреева Е.И. 129

Андреева Л.А. 30, 97

Андреев Я.А. 49

Андрейцев В.В. 117

Анисенко А.Н. 116, 163, 164

Антипова Н.В. 48, 128

Антипова О.М. 132

Антоненко Ю.Н. 6, 17, 55, 72

Антропова Ю.Г. 80

Ануфриева К.С. 92, 145

Ануфриев П.Л. 36

Арапиди Г.П. 92, 145

Аристова Е.О. 11

Арутюнян А.М. 33

Атаев Я. 28

Афанасьева А.А. 161

Афонин Д.А. 121

Ацаркина Н.В. 30, 64

Ашапкин В.В. 92

Ашников Г.А. 90

Б

Бабаева Г. 156

Бабенко В.А. 12

Бабоша В.А. 134

Бавыкин А.С. 123

Багаева Д.Ф. 47

Багров Д.В. 100

Бадлаева А.С. 66

Бажанова О.А. 70

Байгазиева Д.А. 108

Байир Х. 49

Байков А.А. 28

Байрамова Д.О. 87

Бакаева З.В. 30, 51, 58, 80

Бакунова А.К. 73

Бакшеева В.Е. 160

Балдин А.В. 160

Балева М.В. 22, 138, 150

Балобанов В.А. 117

Балтин С.М. 161

Баранич Т.И. 36

Баранова О.А. 52

Барановский Д.С. 114

Баринова К.В. 31

Баркин В.В. 31

Бачева А.В. 42

Баюрова Е.О. 15, 116

Безсонов Е.Е. 37, 63, 102

Безсуднова Е.Ю. 73

Безуглов В.В. 30

Безуглов В.С. 92

Бекбаева И.В. 92

Беликова Л.Д. 85

Беликов Н.Е. 32, 75

Белов А.С. 31

Белова У.Д. 163

Белослудцева Н.В. 7

Белослудцев К.Н. 7

Беляев А.В. 83

Беренгартен М.Г. 68

Берцова Ю.В. 17, 28

Бессонова Т.А. 127

Бетенькова Р.Ю. 93

Бибишева Р.Д. 142

Бизяев Н.С. 94

Бирюков М.В. 135

Богачев А.В. 17, 28

Богомазова А.Н. 85

Божьев И.В. 147

Бойко К.М. 35

Болихова А.К. 94, 128, 157

Большаков С.А. 34

Борзенко Н.И. 95

Борисов В.Б. 33

Борисов Е.Е. 96

Бородай Я.Р. 7

Бортяж М.О. 115

Борщевский В.И. 112, 131, 163

Бояркин Д.П. 30

Брага Э.А. 154

Брезгин С.А. 15, 116, 156

Британова О.В. 98, 138, 148

Будаговская Н.В. 33

Булгакова У.В. 34

Булгин И.В. 68

Бураков А.В. 93

Бурлака А.А. 96

Бутылин А.А. 97

Буфеева Л.С. 98

Бухалович С.М. 47

Буян А.И. 94

Былино О.В. 53, 54

В

Вавилов Н.Э. 92

Валихов М.П. 154

Вараева Ю.Р. 27

Варфоломеева Л.А. 35

Васильева М.И. 98

Васильев Р.А. 22, 138

Вахрушева О.А. 99

Вашилин В.Э. 90

Вдовина Ю.А. 87

Величко А.К. 107

Вельц О.В. 36

Вепхвадзе Т.Ф. 7

Виговский М.А. 7

Виноградова Д.С. 14

Виноградова К.В. 99

Вирясова Г.М. 133

Вирясов М.Б. 150

Витебская А.В. 138

Витухновская Л.А. 23

Вишняков Д.И. 129

Внукова А.А. 100

Волик П.И. 36

Вологжанникова А.А. 126

Володин В.В. 15

Волынкина И.А. 101, 110, 115

Воробьева Н.В. 83, 101

Воробьев И.И. 145

Воронков Д.Н. 36, 74

Выгодина Т.В. 64

Высоких М.Ю. 7

Вьюнова Т.В. 97

Вьюшков В.С. 102, 109, 135

Вячеславов А.И. 36

Г

Габибов А.Г. 9

Гаврилов А.А. 22

Гаврилова Д.Д. 37, 102

Галкина К.В. 27, 89, 96

Галямина М.А. 95

Гаранин С.М. 31

Гармаза Ю.М. 39, 66

Гаспарян М.Э. 48

Гасса М. 103, 151

Гегечкори В.И. 156
Гельфанд М.С. 20, 90, 136
Гельфенбейн Д.М. 131
Генерозова И.П. 38, 104
Георгиева С.Г. 125
Георгиев П.Г. 134
Герасимов А.Д. 129
Герасимова Н.С. 104
Герасимов Н.Ю. 38, 39, 40, 41, 104
Гизатуллина Д.Р. 47
Глаголева Е.С. 71
Глушков А.Г. 159
Говорун В.М. 145
Голева Т.Н. 47, 50, 84
Голенкина Е.А. 133
Голов А.К. 22
Головко В.А. 126
Голощупов А.Н. 38, 39, 40, 41, 104
Голубева Ю.А. 105
Гольшев С.А. 77, 109
Гончарова Н.В. 66
Гончаров А.О. 145
Гоптарь И.А. 15, 156
Горбатенко В.О. 106, 159
Горбачева Л.Р. 41, 58
Горбачев А.Ю. 95, 130, 152
Гордеев К.В. 162
Гордейчук И.В. 15, 116
Горделий В.И. 47
Горин К.В. 68
Гороховец Н.В. 156, 163
Горшков М.В. 140, 142
Горяинов С.В. 106, 159
Готманова Н.Н. 42
Готтих М.Б. 8, 116, 161, 163, 164
Гофман А.А. 36
Грабович М.Ю. 132
Грецкая Н.М. 30
Григорьев А.С. 111
Григорьева О.А. 7
Григорьева О.О. 70
Гришина У.Д. 63
Гришко А.Ю. 147
Гробушкин П.А. 126
Гроза Н.В. 56
Гук Д.А. 113
Гуляева Н.В. 78
Гунбин К.В. 43
Гуранда Д.Ф. 43, 65
Гурбанова О.Я. 28

Д

Давитадзе М.С. 44
Дашевский Д.Е. 131
Дашкевич А.А. 106
Деев С.М. 120, 139
Деменева У.И. 161
Демина О.В. 32, 75
Демина П.А. 116
Дергоусова Н.И. 35
Дериглазов Д.А. 107
Дерюшева Е.И. 126
Дзаријева Ф.М. 132
Диатроптова М.А. 129
Диброва Д.В. 162

Дмитриев С.Е. 9, 44, 81, 110, 123, 126, 154
Добрынин Н.С. 47
Донцова О.А. 94, 101, 115, 118, 121, 128, 142, 157, 161
Дормешкин Д.О. 112
До Ф.Т. 117
Доценко А.М. 114
Дробот В.В. 65
Дрождев А.И. 106
Дружкова И.Н. 48
Дубинин М.В. 7
Дугина В.Б. 107
Дудкина Е.С. 108
Дьяченко И.А. 49

Е

Евтушенко Е.А. 148, 152, 158
Еговцев Н.А. 107
Егорова А.В. 74
Егорова Т.В. 94
Егоров Е.С. 119
Егоршина А.Ю. 36
Елисеев А.А. 147
Елисеева О.В. 116
Ельцов О.С. 149
Ермаков А.М. 141
Ерохин М.М. 117
Ефименко А.Ю. 7
Ефимов Н.Н. 35

Ж

Жарикова А.А. 19
Животовский Б. 36
Животовский Б.Д. 43, 45, 61, 66, 77, 87
Жигалова Н.А. 136
Жиганов Н.И. 108
Жигачева И.В. 38, 39, 40, 104
Житкевич А.С. 15
Журавлева А.А. 63

З

Заборова О.В. 154
Заварыкина Т.М. 108
Закалюкина Ю.В. 135
Замалутдинова С.В. 109
Замараев А.В. 36, 43, 45
Замятнин А.А. (мл) 10, 116, 143, 156
Замятнина К.А. 110
Зарубин М.П. 110
Захарова О.А. 31
Захарьева Е.В. 111
Звездин Д. 19
Зверева М.И. 135
Зверева М.Э. 146, 166
Згода В.Г. 92
Згодова А.Е. 30
Зеленкова Г.А. 60
Зерний Е.Ю. 10, 160, 163
Зимина А.А. 37, 112
Зинкевич А.О. 11
Зиновкина Л.А. 106
Зиновкин Р.А. 17, 45
Зорова Л.Д. 12, 76

Зоров Д.Б. 12
Зоров С.Д. 12
Зотова П.А. 72
Зубарева В.М. 46
Зубрицкая Г.П. 46

И

Иванков А.И. 110
Иванников А.Д. 112
Иванова А.Е. 41
Иванова О.Е. 126
Иванова О.М. 92, 145
Иванова Т.И. 114
Иванов Б.М. 132
Иванов М.В. 140, 142
Иващенко М.В. 47
Ивин Ю.Ю. 100, 126
Ивлев В.А. 34
Игнатова А.А. 57
Иззи А.Р. 135, 157
Ильзоркина А.И. 7
Ильинский Н.С. 47
Иншакова А.М. 52
Ипатова Д.А. 113
Исагулянц М.Г. 116
Исаева Л.В. 109
Исакова А.А. 48

К

Кабаева Е.Н. 66
Каган В.Е. 49
Кадымов Л.В. 114
Казьмина Ю.С. 114
Калайдзидис Я.Л. 12
Калинина Н.И. 80
Калиновский А.П. 49
Калиш С.В. 114
Калмыкова А.И. 65
Камалов А.А. 25
Каменский П.А. 22, 110, 138, 150
Капуста А.А. 36
Карагаюр М.Н. 7
Каракчиева А.О. 115
Карганова Г.Г. 123
Каретников Г.Л. 113
Каримова О.С. 77
Карпова О.В. 13, 148, 152, 158
Касьянова М.М. 116
Кац Л.М. 110
Качаев З.М. 103, 151
Качанова А.В. 156
Качанов А.В. 116
Качанова М.А. 50
Кашин А.В. 31
Кашко Н.Д. 13, 133
Квичанский А.А. 78
Кирилин Е.М. 120, 140
Кирсанов Р.С. 17, 55, 72
Кислухина Е.Н. 51, 58
Китаева М.И. 146
Клименко И.В. 51, 52, 63
Кнорре Д.А. 13, 27, 96, 133
Коваленко А.О. 158
Ковальчук С.И. 59

Ковпак А.А. 100
Ковчина В.И. 99
Кожевникова Е.О. 114
Кожевникова О.С. 14
Козельчук Н.Я. 117
Козин С.А. 19
Козлова О.А. 52
Козулёва М.А. 67
Козырко Е.В. 108
Коковихина А.А. 162
Кокшарова О.А. 144
Колесникова В.В. 117
Колесова Е.С. 129
Колесов Д.Э. 145
Колосова Н.Г. 14
Комарова Е.С. 118
Кондратенко Н.Д. 17, 119
Конева А.Л. 14
Кононова Д.В. 119
Конопатов А.В. 53, 54
Константинова А.В. 54
Копейкина Г.С. 36, 43, 45, 61, 66, 77, 87
Копнин П.Б. 107
Копылов А.М. 132
Копылов К.Е. 120
Копытова Д.В. 125
Коркунова Е.А. 150
Корнилов Д.А. 47
Королев С.П. 163, 164
Королькова Ю.В. 49
Короткова Н.А. 120
Корсаков А.В. 150
Коршунова Г.А. 55
Корягина М.С. 121
Костюшева А.П. 15, 116, 156
Костюшев Д.С. 15, 116, 156
Косырева А.М. 96, 129
Котельникова П.А. 120, 139
Котова Е.А. 17, 55
Кочаровская М.В. 112
Кошкина Д.О. 121
Кравченко Е.В. 110
Кравченко М.А. 122
Краснов В.С. 17, 55
Краснов К.С. 48
Красота А.Ю. 126
Краюхина К.Ю. 31
Кривандин А.В. 41
Крицкая Л.Д. 56
Круглов А.Г. 62
Круглов И.И. 123
Кубарева Е.А. 146, 150, 166
Кувырченкова А.П. 47
Кудрявцев А.А. 147
Кудрявцева С.С. 56
Кузнецова У.Д. 127
Кузнецова Е.В. 143
Кузьмин Н.А. 57
Куканова А.А. 124
Кулаковский И.В. 11, 16
Кульбачинский А.В. 16, 131
Кульбачная М.А. 124
Кунгурцева А.Л. 138
Курочкина Л.П. 58
Курочкина Н.С. 7

Куршакова М.М. 125
Кучминская М.Б. 37
Кущенко А.С. 123, 126

Л

Лавров М.И. 97
Лагарькова М.А. 85, 145
Лапашина А.С. 46, 81
Латышев О.Е. 116
Лашкин А.И. 92
Левицкий С.А. 22, 138
Лейси Е.В. 58
Леконцева Н.В. 117
Лизунова Н.В. 51, 58
Линдин Е.Ю. 150
Липатова А.В. 36, 126, 154
Лисицкая Л.А. 131
Литус Е.А. 126
Лиференко А.Н. 164
Лобанов А.В. 51, 52, 63
Логачёва М.Д. 124
Ломакина А.К. 59
Ломов Н.А. 102, 135
Ломовская Я.В. 147
Лопатина Е.Т. 47
Лугинина А.П. 131
Лужин А.В. 107
Лужина Е.А. 108
Лужков В.Б. 60
Лукашев А.Н. 15, 116, 156
Лукина М.М. 145
Лукин А.Ю. 32, 75
Лукьянов Д.А. 101, 135
Люкманова Е.Н. 112
Лямзаев К.Г. 17, 24, 85
Лямина С.В. 114

М

Магкаев А.Т. 127
Мазина Л.М. 60
Мазур Д.В. 48, 128
Макаров А.А. 19
Макарюк А.М. 142
Макеева А.С. 122
Маклецова М.Г. 60
Максименко О.Г. 134
Малюченко Н.В. 121, 143
Мамедова А.Р. 45, 61, 77
Мамедова Д.И. 78
Мамедов М.Д. 17, 23
Манухова Л.А. 7
Марей М.В. 7
Мармий Н.В. 82
Мартини Б.А. 111
Маршанский В.Н. 18
Марьясина С.С. 27, 34, 128, 157
Маслова О.В. 61, 66, 77
Медведева В.П. 68
Медведева М.В. 31
Мелехин В.В. 129, 149
Мерзляк Е.М. 98, 138
Микрюкова А.А. 80
Милановский Г.Е. 23, 67
Миронов А.А. 19

Миронова Г.Д. 68
Миронов В.В. 68
Мирошниченко Е.А. 129
Митькевич В.А. 19
Михайлина А.О. 117
Михайлов А.С. 105
Михайлычева М.В. 95, 130
Михалицына М.А. 131
Мишин А.В. 131, 163
Моисеева О.В. 31, 131
Моисеева Ю.В. 78
Моисеенко В.Л. 132
Монахова М.В. 166
Моргунова В.В. 65
Моргунова Г.В. 78
Морозова И.А. 65
Московцев А.А. 80
Мунтян М.С. 83, 101, 132
Муравьёв Г.С. 133
Муралёва Н.А. 14
Муронец В.И. 31
Муругова Т.Н. 110
Мусяенко П.Е. 97
Мышкин М.Ю. 98, 138
Мяконьких А.В. 147
Мясоедов Н.Ф. 30, 97

Н

Наварнова С.В. 133
Нагаев И.Ю. 97
Назарова С.Ф. 47
Назаровская Д.А. 98
Нарциссов Я.Р. 61
Неврова О.В. 38, 39, 40, 104
Недогреева О.А. 78
Недоспасов С.А. 20
Немашкалова Е.Л. 126
Немиц Е.А. 134
Немцова М.В. 143
Нерсисян Э.С. 63
Нестеров С.В. 47
Нижников А.А. 122
Никандрова А.А. 118, 135
Никитин Н.А. 148, 152, 158
Никифорова А.Б. 62
Никишин Д.А. 77
Николаев Н.А. 135
Никонова Е.Ю. 117
Никонов О.С. 117
Никулин М.В. 65
Ниллов Д.К. 66
Новикова Л.А. 109
Новичкова А.М. 121

О

Овчинникова В.О. 78
Ожиганов Р.М. 72
Озерова А.М. 20, 136
Озеров Д.Д. 63
Олейникова Е.Ю. 136
Олейников И.П. 64
Омельченко А.В. 96
Орлова Е.А. 65
Орлова Н.А. 145

Осминкина Л.А. 98, 147
Островский М.А. 21

П

Павлова Г.В. 132
Павлов В.В. 47
Павлюченкова А.Н. 17
Паликова Ю.А. 49
Паликов В.А. 49
Палязова Я.З. 28
Панин Н.В. 65
Панова Е.А. 126, 154
Панова Т.В. 135
Пантелеева А.А. 17, 24, 85
Пантелеев М.А. 57
Парамонова А.В. 129
Паращук Д.Ю. 150
Паращук О.Д. 150
Паско В.И. 85
Пастухов А.А. 41
Пашкова О.Л. 66
Певзнер И.Б. 12, 59
Пензар Д.Д. 11
Первушин Н.В. 36, 66, 87, 98, 147
Пермяков О.А. 61, 70
Петрова А.А. 67
Петрова М.Г. 68
Петрова Н.В. 107
Петровская Л.Е. 75
Петросян Г.А. 135
Петрякова А.Д. 135
Пинелис В.Г. 30
Пиняева А.Н. 100
Пиунова У.Е. 22, 138, 150
Плетенева Д.А. 138
Плеханова Е.В. 60
Плотников Е.Ю. 12, 59
Побегуц О.В. 95
Подольяко В.В. 139
Подшивалов Д.Д. 140
Пожидаев В.М. 68
Поздышев Д.В. 58
Покидова О.В. 60
Покровский В.С. 156
Полесскова Е.В. 14
Поликарпов Е.В. 30
Польшаков В.И. 27, 34, 128
Полякова Т.В. 68
Поляков Ф.М. 148
Помогаев Д.Д. 140
Пономарева Н.И. 15, 116, 156
Попков В.А. 12
Попов В.О. 35, 73
Попов В.С. 61, 77
Попов Д.В. 7
Попов Иг.В. 141
Попов Ил.В. 141
Потапова Т.В. 69
Поташникова Д.М. 123
Приймак А.В. 61, 70
Пронина И.В. 108, 154
Пронин И.Н. 132
Протасов С.А. 142
Пряхина Е.В. 159
Птушенко В.В. 70

Птушенко О.С. 71

Р

Рабоштан П.Ф. 89
Равин Н.В. 132
Разин С.В. 22, 107
Разумова Е.А. 142
Рижиков Ю.Л. 110
Робустова С.Д. 119
Рогачевская О.А. 80
Рогов А.Г. 47, 50, 84
Родионов Д.А. 90
Родионов И.В. 143
Розина А.А. 163
Рокицкая Т.И. 72
Романова Е.А. 165
Ротов А.В. 35
Рубцова М.П. 94, 121, 142, 161
Рубцов М.А. 102, 109
Руденко А.Ю. 70, 72, 128
Руденко Т.С. 132
Рудина Ю.В. 73
Рузов А.С. 136
Руина К.С. 60
Румянцев А.М. 122
Русак Т.Е. 99
Рябова М.С. 74
Рябчевская Е.М. 148, 152, 158
Рябых Г. 19

С

Савватеева Л.В. 156
Савицкая В.Ю. 146
Савостьянов К.В. 58
Садова А.П. 131
Сазонова Е.В. 87
Салина Е.Г. 111
Салман А. 94
Самойленкова Н.С. 132
Санина Н.А. 60, 74
Саратовских Е.А. 74
Саулина А.А. 143
Сафинова А.Я. 75
Сафронова Н.А. 144
Сащенко Л.П. 165
Свирина Е.А. 145
Северин Ф.Ф. 77
Семенова М.Л. 77
Семенов А.Ю. 23
Семёнов А.Ю. 67
Семенович Д.С. 12, 76
Сенин И.И. 82, 160
Сергеева М.Г. 106, 159
Сергеев О.В. 92
Сергиев П.В. 23, 70, 72, 94, 101, 105, 115, 118, 128, 135, 157
Серебрякова М.А. 128
Серов Д.А. 7
Сидоров С.В. 60
Силачев Д.Н. 12, 59
Силецкий С.А. 76
Силонов С.А. 80
Симонян Р.А. 24, 85
Синегубова М.В. 145
Скворцов Д.А. 113, 159

Скворцов Д.П. 159
Скрябин Б.В. 61, 77
Скулачев В.П. 7, 17
Скулачев М.В. 24
Слобожанина Е.И. 39
Слотвицкий М.М. 119
Смирнова Е.А. 77
Смолянинова Л.В. 61, 77
Сныга В.Г. 146
Собина И.О. 147
Соколова Д.В. 156
Соколова Е.Е. 94
Соколов С.С. 77
Соловьёва Н.А. 92
Соловьёва Э.Ю. 52
Сорокина Е.В. 86
Сосоров А.Ю. 150
Староверов Д.Б. 98, 138
Степаничев М.Ю. 78
Степанов Н.Г. 151
Стефанова Н.А. 14
Столбоушкина Е.А. 110
Стройлова Ю.Ю. 54
Строчкова Н.Ю. 78
Стрыгин А.В. 89, 114
Студитский В.М. 104, 121, 143
Судаков Р.В. 79
Сумбатян Н.В. 85
Сурикова Е.Д. 77
Сурин А.М. 30, 51, 58, 80
Суспицина А.Д. 161
Сухинина А.П. 126
Сухих Г.Т. 108
Сухоруков В.С. 36, 74
Сюткина В.В. 80

Т

Табакян Е.А. 148
Таржанов И.А. 30
Ташлицкий В.Н. 55, 135
Твердова Н.Д. 148
Творогова А.В. 165
Тебекина К.Л. 63
Телегина Д.В. 14
Терещенкова В.Ф. 108
Тимотиевич Е.Д. 99
Тихонова Е.А. 134
Тихонова А.С. 116, 156
Тихонова Т.В. 35
Тихонов С.А. 81
Ткачук В.А. 80
Торопов С.Е. 152
Торопов С.Е. 148
Тохтуева М.Д. 129, 149
Третьякова Л.В. 78
Третьяков Д.О. 81
Трефилов В.С. 150
Трубицын А.А. 150
Трусова Е.А. 51
Трусов Н.В. 152
Тулякко В.Е. 148
Тутукина М.Н. 127
Тучинская К.К. 123
Тынтерова А.М. 124
Тышковский А.Э. 44, 81

Тюлина В.В. 82, 160
Тюлюбаев В.В. 99
Тюрин-Кузьмин П.А. 36, 98, 147

У

Уверский В.Н. 110
Уголкова Е.А. 35
Ульянова Ю.А. 151
Ульянов С.В. 22
Умарова Е.П. 152
Уразаева Д.Р. 95, 152
Уразов Д.О. 56
Ураков В.Н. 110
Устьянцев Д.А. 60
Ушакова А.А. 37

Ф

Фадеев Р.С. 48
Фалетров Я.В. 153, 166
Федин А.И. 52
Федорова Е.Н. 74
Федоровский А.Г. 115, 154
Федотова И.В. 83
Федулов А.П. 36
Фенюк Б.А. 46, 81
Феофанов А.В. 121, 143
Ферберг А.С. 126
Фетисова Е.К. 83
Филиппова А.С. 155
Филиппова Е.А. 154
Филиппов В.В. 7
Фирсов А.М. 55, 64
Фонин А.В. 80
Фролова А.С. 156
Фролова Н.С. 153
Фурсова А.Ж. 14

Х

Хаитов М.Р. 99
Хайдуков Е.В. 116
Хайлова Л.С. 55, 72
Ханнанов Р.А. 22
Харечкина Е.С. 62
Хвастунов В.О. 84
Хлебников Д. 19
Ходонов А.А. 32, 75
Хорн П.А. 131
Хохлова М.А. 128, 157
Хохлова С.В. 108
Хренова М.Г. 135
Хуан Х. 24, 85
Хундерякова Н.В. 68

Ц

Цвеляя В.А. 119
Цыбина А.А. 158

Ч

Чеканов А.В. 52
Челомбитько М.А. 17, 78
Чепикова О.Е. 156
Черепанов Д.А. 67
Черный Н.В. 158

Черняк Б.В. 17, 24, 85, 106
Четверина Д.А. 117
Чечехин В.И. 80
Чистяков В.В. 159
Чистяков Д.В. 106, 159, 160
Чичерин И.В. 22, 138, 150
Чудаков Д.М. 98, 148
Чуланова В.П. 156
Чуланов В.П. 15, 116
Чумаков С.П. 98
Чуркина А.С. 85, 86

Ш

Шагина И.А. 138
Шамонова М.А. 121
Шапиро М.А. 112
Шарипов Р.Р. 80
Шастина Н.С. 52
Шафиков Р.Р. 159
Шахов А.С. 86
Швядас В.К. 43, 120, 140
Шебардина Н.Г. 160
Шевелёва М.П. 126
Шевченко К.В. 97
Шелякин П.В. 138
Шендер В.О. 92, 145
Шенкарев З.О. 112
Шепелев Н.М. 142, 161
Шехтман С.П. 161
Шибзухова К.А. 71
Шидловский Ю.В. 53, 54, 103, 151
Шилова А.А. 77
Шиловский Г.А. 86, 162
Шиловский И.П. 99
Шипунова В.О. 66
Ширшин Е.А. 25
Шишкин М.Л. 163
Шмальгаузен Е.В. 31
Шнайдер П.В. 92, 145
Штомпель А.С. 22
Штратникова В.Ю. 92, 124
Шувалов А.В. 94
Шувалова Е.Ю. 94
Шулепова А.А. 163
Шутов Е.В. 34
Шушарина Н.Н. 124

Щ

Щелконогов В.А. 52
Щербакова Е.А. 63, 164
Щербаков К.А. 165
Щербина С.А. 119
Щигал О.Е. 164
Щукина А.А. 65

Э

Элпидина Е.Н. 108

Ю

Юркина Д.М. 165
Юсупова Г.Ж. 25
Юсупов М.М. 25

Я

Ягода Д.К. 101
Яголович А.В. 48
Яковец П.С. 153, 166
Якупова Р.Д. 100
Якушева Ю.А. 125
Якушкина Ю.В. 166
Япрынцева М.А. 66, 87
Яшин Д.В. 165

Научное издание

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ
В ГОД 270-летия МГУ**

Сборник материалов международной научной конференции, посвященной 120-летию со дня рождения академика А. Н. Белозерского и 90-летию со дня рождения академика В. П. Скулачёва
Москва, 20–22 февраля 2025 г.

Под общей редакцией П. В. Сергиева

Макет предоставлен Оргкомитетом конференции
Подготовка макета: *А. В. Федяков*
Электронное издание сетевого распространения

Макет утвержден 12.03.2025. Формат 60×90/8. Изд. № 13187.



**ИЗДАТЕЛЬСТВО
МОСКОВСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА**

119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 15
Тел.: (495) 939-32-91; e-mail: secretary@msupress.com
<https://msupress.com>. Отдел реализации:
тел.: (495) 939-33-23; e-mail: zakaz@msupress.com